



UNIVERSIDADE DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

FATORES DE RISCO DURANTE O PERÍODO SECO PARA A OCORRÊNCIA DE  
MASTITES APÓS O PARTO

CATARINA ARAÚJO CORTES

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor Miguel Luís Mendes Saraiva Lima  
Doutor Rui José Branquinho de Bessa  
Doutor José Ricardo Dias Bexiga

ORIENTADOR

Dr. Dário Alexandre Nunes de Sá Guerreiro

CO-ORIENTADOR

Doutor José Ricardo Dias Bexiga

2016  
LISBOA

---





## Agradecimentos

A realização desta dissertação de mestrado contou com o apoio e incentivo de várias pessoas, sem as quais não teria tido o mesmo significado e às quais estarei eternamente grata.

Ao Doutor Ricardo Bexiga, pelos sábios conselhos na realização deste trabalho e pela ajuda sempre disponível. Obrigada pela transmissão de conhecimentos, incentivo e por ter sempre uma palavra amiga;

Ao Paulo, colega e amigo de estágio, sem ele este trabalho não teria sido possível realizar. Obrigada pelos momentos de alegria e diversão que partilhámos durante o estágio;

Ao Dr. Dário Guerreiro, por me ter proporcionado cinco meses de estágio espetaculares. Obrigada pela boa disposição matinal, pela palavra amiga, pelos conselhos e motivação, por todo o conhecimento e experiência que me passou e por servir de exemplo na minha vida pela forma como se dedica e se entrega a tudo o que faz;

À Dra. Cristiana Justo, pela amizade, acolhimento, disponibilidade e por me ter proporcionado tantas oportunidades de aprendizagem. Obrigada por tornar a minha estadia em Madrid inesquecível e cheia de boas recordações;

À Dra. Raquel, pelo carinho, amizade e dedicação durante o meu estágio em Madrid;

Ao Doutor Rui Bessa, pela paciência incrível que teve comigo e pela ajuda na realização da análise de dados;

Ao Doutor Juan Vicente, por me proporcionar a oportunidade de aprender com ele e com a sua equipa durante o meu estágio em Madrid;

Ao Dr. José Cardoso, pela ajuda e conselhos na realização deste trabalho;

À Ceva Saúde Animal pelo apoio financeiro;

À Margarida e à Dona Aurora pela ajuda e boa disposição;

Aos meus amigos, sem vocês não seria o que sou hoje. Obrigada por me permitirem partilhar convosco os momentos importantes da minha vida. Obrigada Cheila, pela tua amizade incondicional, estava destinado começarmos o curso juntas em Vila Real e terminá-lo em Lisboa;

À minha família, que me apoia incondicionalmente e me dá forças em cada nova etapa da minha vida. Obrigada Inês pela ajuda sempre disponível e pela motivação;

Aos meus pais e à minha irmã, os três alicerces da minha vida, sem vocês nada do que concretizei e realizei até hoje seria possível. Obrigada por todo o apoio, conselhos e amor.



# **Fatores de risco durante o período seco para a ocorrência de mastites após o parto**

## **Resumo**

O potencial genético das vacas leiteiras para a produção de leite tem aumentado nas últimas décadas, tornando-se num desafio cada vez maior interromper a lactação no momento da secagem. São vários os fatores de risco associados à secagem que podem predispor para o aparecimento de infecções intramamárias durante o período seco, manifestando-se sob a forma de mastite clínica ou subclínica após o parto. Pretendeu-se com este estudo analisar a influência do gotejamento de leite à secagem na ocorrência de mastites clínicas após o parto. Para além do gotejamento de leite, outros fatores de risco durante o período seco, para a ocorrência de mastites após o parto foram estudados, entre os quais a hiperqueratose dos tetos, a produção de leite total e à secagem, a paridade das vacas, a metodologia de secagem e a contagem de células somáticas antes da secagem e após o parto. Foram registados dados de 82 vacas de duas explorações da região centro de Portugal continental desde setembro de 2015 a abril de 2016. Observou-se uma incidência de gotejamento de leite de 10,9% e o estudo demonstrou haver associação ( $p<0,05$ ) entre a presença de gotejamento de leite à secagem e a ocorrência de mastites clínicas após o parto, sendo a probabilidade de ocorrência de mastites clínicas após o parto maior em animais com gotejamento de leite nos três dias consecutivos à secagem, relativamente a animais sem gotejamento (77,5% e 7,2% respetivamente). Verificou-se ainda que houve associação entre a produção de leite à secagem e a ocorrência de gotejamento de leite ( $p<0,05$ ), associação entre a hiperqueratose dos tetos e a ocorrência de mastites clínicas após o parto ( $p<0,05$ ), e associação entre o método de secagem e a ocorrência de gotejamento de leite ( $p<0,05$ ), embora este último resultado não nos permita tirar conclusões significativas, uma vez que foram comparados animais de explorações distintas.

O presente estudo demonstrou que a presença de gotejamento de leite à secagem predispõe para o aparecimento de mastites clínicas após o parto e que quanto maior a produção de leite à secagem, maior a probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite.

**Palavras-chave:** Período seco, gotejamento de leite, infecções intramamárias, fatores de risco, mastites clínicas.



# **Risk factors during the dry period for the occurrence of mastitis after calving**

## **Abstract**

The genetic potential for milk production has increased during the last few decades and, as a result, it has become a challenge to stop milk production at the moment of dry-off. There are many risk factors associated with dry-off that can increase intramammary infections after calving. The objective of this study was to evaluate the influence of milk leakage at dry-off in clinical mastitis in early lactation. Other risk factors were studied, such as presence of teat hyperkeratosis, milk yield during previous lactation, milk yield at dry-off, parity of cows, milk cessation method (gradual or abrupt) and SCC before dry-off and after parturition. Data from 82 cows from the center of Portugal was gathered between September 2015 and April 2016. The overall incidence of milk leakage in cows was 10,9% and the probability of developing clinical mastitis after calving was higher in cows with milk leakage at dry-off than in cows without milk leakage (77,5% and 7,2% respectively). Cows that had higher milk yield at dry-off were more likely to have milk leakage ( $p<0,05$ ). Teats without hyperkeratosis were more likely to have clinical mastitis in early lactation ( $p<0,05$ ). Gradual cessation of milk decreased the probability of milk leakage at dry-off compared with cows that were dried abruptly ( $p<0,05$ ). However, this last result was not statistically significant because the study was conducted in two different herds.

These results indicate that milk leakage at dry off is a risk factor for clinical mastitis after calving. Another conclusion was that the higher the milk yield at dry-off the higher the probability of having milk leakage.

**Key words:** Dry-off, milk leakage, intramammary infections, risk factors, clinical mastitis.





# Índice

Declaração .....	i
Agradecimentos .....	iii
Resumo .....	v
Abstract.....	vii
Índice .....	ix
Índice de Figuras .....	xii
Índice de Gráficos.....	xiii
Índice de Tabelas .....	xiv
Lista de Abreviaturas.....	xv
Relatório de Estágio .....	xvi
Introdução.....	1
Revisão Bibliográfica .....	3
1. Mastites .....	3
Agentes contagiosos .....	5
1.1.1. Streptococcus agalactiae.....	6
1.1.2. Staphylococcus aureus.....	6
1.1.3. Mycoplasma .....	7
Agentes Ambientais .....	8
1.1.4. Escherichia coli.....	9
1.1.5. Streptococcus uberis .....	10
2. Impacto Económico.....	11
3. Fisiologia da glândula mamária .....	14
4. Período seco .....	16
4.1. Duração .....	17
4.2. Métodos de secagem .....	19
4.3. Alimentação e Maneio da Condição Corporal.....	21
5. Infecções Intramamárias no Período Seco .....	24
5.1. Involução da Glândula Mamária.....	24
5.2. Incidência de novas Infecções Intramamárias .....	28
5.3. Fatores de risco .....	29
5.3.1. Agentes Infecciosos.....	29
5.3.2. Mecanismos de Defesa dos Tetos .....	32
5.3.3. Gotejamento de Leite (Milk leakage).....	34

5.3.4. Fatores Ambientais .....	36
6. Terapia de Secagem .....	38
7. Antagonistas da Prolactina .....	40
8. O Stress na Vaca Seca .....	42
Estudo.....	43
1. Objetivos.....	43
2. Materiais e Métodos .....	43
2.1. Caracterização das Explorações .....	43
2.2. Animais do Estudo .....	44
2.3. Registo de Observações.....	46
2.4. Métodos de Secagem nas Explorações.....	46
2.5. Avaliação de ocorrência de IIM no período seco .....	48
2.6. Análise Estatística .....	48
3. Resultados.....	49
3.1. Animais incluídos no estudo .....	49
3.2. Incidência de gotejamento de leite .....	49
3.3. Produção de leite dos animais avaliados .....	50
3.4. Produção de leite à secagem dos animais avaliados.....	52
3.5. Influência da paridade no gotejamento de leite.....	53
3.6. Grau de hiperqueratose dos tetos.....	54
3.7. Prevalência de IIM ao longo do PS .....	55
3.7.1. IIM antes do período seco .....	55
3.7.2. IIM depois do parto .....	55
3.7.3. IIM durante o PS.....	55
3.8. Ocorrência de mastites clínicas após o parto.....	56
3.9. Resultados da análise estatística .....	57
4. Discussão .....	60
4.1. Incidência de gotejamento de leite .....	60
4.2. Ocorrência de mastites clínicas após o parto.....	61
4.3. Infecções intramamárias durante o período seco .....	61
4.4. Produção de leite total e à secagem.....	62
4.5. Metodologia de secagem (gradual ou abrupto) .....	64
4.6. Paridade das vacas.....	64
4.7. Hiperqueratose dos tetos e ocorrência de gotejamento de leite.....	65
4.8. Análise da relação de variáveis .....	66

Conclusão .....	68
Bibliografia.....	70
ANEXOS .....	82

## Índice de Figuras

<b>Figura 1</b> - Etiologia multifatorial das mastites em vacas leiteiras .....	3
<b>Figura 2</b> - Estrutura suspensora do úbere de uma vaca leiteira. ....	15
<b>Figura 3</b> - Anatomia da glândula mamária. ....	15
<b>Figura 4</b> - Ciclo produtivo de uma vaca leiteira .....	16
<b>Figura 5</b> - Prevalência de agentes encontrados em quatro fases distintas: momento da secagem, duas semanas após secagem, seis semanas após secagem e após o parto. ....	31

## Índice de Gráficos

<b>Gráfico 1</b> - Concentração de IgG e IgM em colostros de períodos secos de 0d, 30d e 60d. ....	19
<b>Gráfico 2</b> - Origem de novas IIM (PS ou Lactação) em casos de mastites clínicas após o parto .....	28
<b>Gráfico 3</b> - Incidência de novas IIM ao longo da vida produtiva da vaca leiteira.....	29
<b>Gráfico 4</b> - Diagnóstico de IIM durante o período seco (microrganismos menores: <i>Staphylococci</i> <i>coagulase</i> -negativos. ....	30
<b>Gráfico 5</b> - Proporção de canais dos tetos por fechar durante o PS, em condições de campo naturais em estudos realizados na Nova Zelândia e EUA. ....	34
<b>Gráfico 6</b> - Percentagem de vacas com gotejamento de leite nos três dias consecutivos após a secagem na Europa (24%), EUA (32%), Brasil (24%) e México (31%). ....	36
<b>Gráfico 7</b> - Concentração de prolactina no plasma em vacas tratadas com cabergolina (barras a cinzento) e vacas controle sem tratamento com cabergolina (barras a preto) em quatro momentos diferentes. ....	41
<b>Gráfico 8</b> - Produção total de leite (L) por animal durante a lactação.....	52
<b>Gráfico 9</b> - Produção de leite 24h antes da secagem na totalidade das vacas do estudo. ....	53
<b>Gráfico 10</b> - Probabilidade de ocorrer gotejamento de leite de acordo com a produção de leite à secagem na vacaria A (laranja) e na vacaria B (azul). ....	58

## Índice de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Escala clínica para determinar a severidade das mastites.....	4
<b>Tabela 2</b> - Agentes etiológicos contagiosos e ambientais de mastites em vacas leiteiras .....	5
<b>Tabela 3</b> - Diminuição da incidência de mastites contagiosas entre 1968, 1995 e 2007 e o aumento proporcional de mastites ambientais por <i>E. coli</i> e <i>Streptococcus uberis</i> . ....	11
<b>Tabela 4</b> - Consequências económicas das mastites: custos diretos e indiretos. ....	12
<b>Tabela 5</b> - Valor aferido para o impacto económico das mastites em diversos estudos publicados.....	13
<b>Tabela 6</b> - Durações ideais de períodos seco conforme o número de lactações. ....	18
<b>Tabela 7</b> - Infecção experimental com <i>E. coli</i> em vacas secas e vacas em lactação. ....	26
<b>Tabela 8</b> - Dados registados nas explorações A e B no início do estudo (outubro de 2015).....	44
<b>Tabela 9</b> - Lista dos dados registados para todos os animais do estudo .....	45
<b>Tabela 10</b> -Dia e horário das observações efetuadas a cada vaca do estudo .....	46
<b>Tabela 11</b> - Esquema de secagem na vacaria A.....	47
<b>Tabela 12</b> - Dieta fornecida a cada vaca conforme a fase de produção na vacaria A.....	47
<b>Tabela 13</b> - Dieta fornecida a cada vaca conforme a fase de produção na vacaria B .....	47
<b>Tabela 14</b> - Vacas com gotejamento de leite (Vacaria A). ....	49
<b>Tabela 15</b> - Vacas com gotejamento de leite (vacaria B) – AD- Anterior direito, AE- Anterior esquerdo, PD- Posterior direito, PE- Posterior esquerdo. ....	50
<b>Tabela 16</b> - Distribuição das observações de gotejamento de leite nas três visitas (24h, 36h e 48h após a secagem).....	50
<b>Tabela 17</b> - Média de produção leiteira total e à secagem das vacas com e sem gotejamento de leite. 53	
<b>Tabela 18</b> - Ocorrência de gotejamento de leite à secagem em vacas primíparas e múltíparas. ....	53
<b>Tabela 19</b> - Frequência e percentagem de animais no estudo com hiperqueratose. ....	54
<b>Tabela 20</b> - Presença de hiperqueratose nos tetos das vacas com gotejamento de leite à secagem. ....	54
<b>Tabela 21</b> - Percentagem de vacas com IIM antes do PS e após o parto. ....	55
<b>Tabela 22</b> - Distribuição e classificação das IIM ao longo do PS. ....	56
<b>Tabela 23</b> - Ocorrência de mastites clínicas em função de estado de infeção ao longo do período seco. .....	56
<b>Tabela 24</b> - Ocorrência de gotejamento de leite à secagem, nas vacas que adquiriram mastite clínica após o parto. ....	57
<b>Tabela 25</b> - Efeito da presença de gotejamento de leite à secagem na probabilidade de ocorrência de mastites clínicas após o parto. ....	57
<b>Tabela 26</b> - Efeito da presença de hiperqueratose nos tetos à secagem na ocorrência de mastites clínicas após o parto.....	57
<b>Tabela 27</b> - Probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite consoante o método de secagem abrupto da vacaria B e o método de secagem gradual da vacaria A .....	58
<b>Tabela 28</b> - Probabilidade de ocorrência de mastite clínica após o parto de acordo com a paridade das vacas (múltíparas ou primíparas). ....	59

## Lista de Abreviaturas

<b>BHB</b>	Beta-hidroxibutirato
<b>C</b>	Crónica
<b>Ca</b>	Cálcio
<b>CC</b>	Condição Corporal
<b>CCS</b>	Contagem de Células Somáticas
<b>d</b>	Dias
<b>DEL</b>	Dias em Leite
<b><i>E. coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>EUA</b>	Estados Unidos da América
<b>G</b>	Grama
<b>GL</b>	Gotejamento de leite
<b>I</b>	Infectada
<b>Ig</b>	Imunoglobulinas
<b>IIM</b>	Infeções Intramamárias
<b>IMS</b>	Ingestão de Matéria Seca
<b>kg</b>	Quilograma
<b>L</b>	Litro
<b>MC</b>	Mastites Clínicas
<b>mg</b>	Miligrama
<b>ml</b>	Mililitro
<b><i>M. bovis</i></b>	<i>Mycoplasma bovis</i>
<b>MS</b>	Matéria Seca
<b>MSC</b>	Mastites Subclínicas
<b>NEFA</b>	Ácidos Gordos Não Esterificados
<b>PS</b>	Período Seco
<b>Spp.</b>	<i>Species</i>
<b><i>Staph.</i></b>	<i>Staphylococcus</i>
<b><i>Strep.</i></b>	<i>Streptococcus</i>
<b>TCM</b>	Teste Californiano de Mastites
<b>TMR</b>	Total Mixed Ration
<b>VPP</b>	Vacas Pré-Parto
<b>VSPD</b>	Vacas Secas Propriamente Ditas
<b>%</b>	Percentagem
<b>°C</b>	Graus Celcius
<b>€</b>	Euro



## Relatório de Estágio

O estágio curricular decorreu desde o dia 10 de setembro de 2015 a 30 de dezembro de 2015, com o Dr. Dário Guerreiro na região da Península de Setúbal e Baixo Alentejo.

Durante o estágio, tive a oportunidade de acompanhar o Dr. Dário no seu trabalho, no qual pude participar nas diversas atividades que o constituem, entre as quais:

- Clínica de espécies pecuárias incluindo diversas doenças: pneumonias, diarreias neonatais, cetoses, acidoses, timpanismo ruminal, queratoconjuntivite infecciosa bovina, metrites, mastites, retenções placentárias, prolapso uterino, prolapso retal, laminites e outras patologias podais, fascioloses em ovinos e caprinos, entre outros;
- Cirurgia de ruminantes: cesariana, deslocamento de abomaso à esquerda, hérnia umbilical, castração de carneiros e cavalos;
- Reprodução em bovinos de leite e de carne: diagnósticos de gestação, palpação retal pós-parto para verificar a involução uterina, e palpação para sincronização deaios. Partos e manobras obstétricas;
- Saneamento: prova de tuberculinização, recolha de sangue para despiste de brucelose bovina, tuberculose bovina e leucose enzoótica bovina;
- Medidas profiláticas: vacinação e desparasitação de bovinos, ovinos, caprinos, equinos, canídeos e felinos;
- Necrópsia de ruminantes.

Para além do estágio curricular com o Dr. Dário Guerreiro, tive a oportunidade de estagiar com a empresa Trialvet, Asesoría e Investigación veterinária S.L., em Madrid, Espanha, constituída por quatro veterinários que se dedicam à medicina veterinária de bovinos de leite: Dr. Juan Vicente Gonzalez Martín, Dra. Natividad Pérez, Dra. Cristiana Justo e Dra. Raquel Patrón. Este estágio decorreu durante os meses de fevereiro e março de 2016, e durante o mesmo, tive a oportunidade de participar em diversas atividades, entre as quais:

- Clínica e cirurgia de bovinos de leite (pude participar em dez cirurgias de deslocamento de abomaso);
- Reprodução de bovinos de leite: diagnóstico de gestação (precoce, confirmação e pré-secagem), palpação pós-parto (metrites, involução uterina), palpação para sincronizações deaios;

- Qualidade de leite: teste californiano de mastites (TCM), recolha de amostras de leite para contagem de células somáticas, consultoria a produtores de leite para a empresa DANONE S.A.;
- Matadouro: recolha de gânglios linfáticos obrigatórios (pré-escapular, retro-faríngeo, mediastínico, hepático e traqueo-bronquial) em animais positivos a prova de tuberculose;
- Participação num ensaio clínico sobre síndrome respiratório bovino em bovinos de engorda.

Entre os meses de Setembro de 2015 e Março de 2016 desloquei-me à exploração designada no estudo como “Vacaria A” para recolher os dados para o estudo em questão.



## Introdução

As mastites são consideradas a doença mais frequente e com maior impacto económico na produção leiteira (Halasa, Huijps, Osteras & Hogeveen, 2007; Hogeveen, Huijps & Lam, 2011), uma vez que são responsáveis pela diminuição da produção, redução da qualidade do leite e aumento dos custos associados (Halasa *et al.*, 2007).

O potencial genético das vacas para a produção de leite tem sofrido um aumento nas últimas décadas, tornando cada vez mais difícil a interrupção da ordenha em vacas altas produtoras no momento da secagem.

O período seco é um período de “descanso” importante para a vaca leiteira e para a sua glândula mamária. Começa com a interrupção definitiva da ordenha e tem uma duração frequentemente entre 45-60 dias, até ao início da lactação seguinte. É um período crucial para maximizar a produtividade de leite nas lactações seguintes e para minimizar os fatores de risco de infeções intramamárias.

A ocorrência de mastites após o parto é maioritariamente proveniente de infeções adquiridas durante o período seco (Green, Medley, Schukken & Bradley, 2002).

Após a cessação da ordenha o úbere sofre um ingurgitamento (aumento da pressão e do volume) que leva a acumulação de leite e possível perda de leite pelos tetos (Dingwell *et al.*, 2004). Para além das perdas de leite, o ingurgitamento do úbere pode provocar desconforto na glândula mamária e um aumento da suscetibilidade a novas infeções intramamárias (Leitner, Jacoby, Maltz & Silanikove, 2007). É no início e no final do período seco que a ocorrência de infeções intramamárias é mais elevada, uma vez que nestas fases a glândula mamária sofre algumas modificações na sua fisiologia e anatomia (Church, Fox, Gaskins, Hancock & Gay, 2008).

O nível de produção de leite antes da secagem e a incidência de perdas de leite durante a semana após a última ordenha são também fatores de risco para novas infeções intramamárias no início do período seco.

O gotejamento de leite consiste na perda de leite através do canal do teto quando a vaca não está a ser ordenhada e a sua frequência pode variar entre 0 e 36% na semana após a secagem (Schukken, Grommers, van de Geer, Erb & Brand, 1990).

Neste trabalho pretendeu-se fazer uma revisão do que é conhecido na literatura acerca das mastites e dos fatores de risco associados ao aparecimento de novas infeções intramamárias durante o período seco, nomeadamente no que diz respeito ao gotejamento de leite. É descrito também um estudo observacional prospetivo que incidiu desde a secagem até aos 30 dias após o parto.

# Revisão Bibliográfica

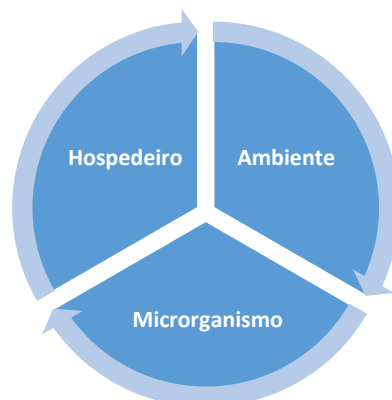
## 1. Mastites

A mastite é uma inflamação do parênquima da glândula mamária e independentemente da causa, física ou infecciosa, é caracterizada como aguda ou crônica, relativamente à sua duração, e como clínica ou subclínica, relativamente à presença ou ausência de sinais clínicos (Lundberg, 2015).

A mastite clínica resulta num conjunto de mudanças físicas e químicas no leite e em alterações patológicas no tecido glandular. As alterações mais importantes no leite são a descoloração, presença de grumos e a elevada quantidade de leucócitos. Em alguns casos, pode haver inchaço, dor, edema, rubor e calor da glândula mamária (Radostitis, Gay, Hinchcliff, & Constable, 2006). No entanto, muitas mastites não são detetáveis diretamente, tratando-se de mastites subclínicas, que apenas são diagnosticadas com testes indiretos de contagem de células somáticas (CCS) ou condutividade elétrica no leite (Radostitis *et al.*, 2006).

Desta forma, Radostitis e colegas (2006) classificam a mastite como uma doença caracterizada pela presença de aumento significativo de CCS no leite de glândulas mamárias afetadas. O aumento de CCS é na maioria dos casos, devido a uma elevação da concentração de neutrófilos, que representa uma reação do organismo a uma lesão, seguida de alterações no leite e na glândula mamária. A caracterização da mastite depende da identificação do agente causador, quer seja infeccioso ou físico. É uma doença complexa, para a qual contribuem vários fatores como o ambiente, o manejo, a fisiologia do úbere, a saúde da vaca e o agente etiológico (Figura 1) (Scott, Penny & Macrae, 2011).

**Figura 1** - Etiologia multifatorial das mastites em vacas leiteiras



A CCS no leite mede a concentração de células somáticas, predominantemente inflamatórias e é uma ferramenta de diagnóstico importante para mastites subclínicas. A CCS de um úbere saudável é cerca de 70.000 células/ml no leite (Djabri, Bareille, Beaudeau, & Seegers, 2002), depende da idade, raça, fase da lactação e da produção de leite da vaca (Nyman, Persson Waller, Bennedsgaard, Larsen & Emanuelson, 2014). Um limite de 200.000 células/ml foi proposto para diferenciar mastites subclínicas, de úberes saudáveis (Lundberg, 2015).

A ocorrência de mastites clínicas (MC) e mastites subclínicas (MSC) pode aumentar com o número de partos (Lundberg, 2015) e a de MSC pode aumentar com os dias em leite (Busato, Trachsel, Schällibaum & Blum, 2000). As vacas correm maior risco de contrair MC perto do parto e no início da lactação (Persson Waller *et al.*, 2009; Verbeke, Piepers, Supre, & De Vlieghe, 2014) e é por isso que muitas vacas têm CCS altas no primeiro contraste leiteiro após o parto (Archer, MCoy, Wapenaar & Green, 2013).

As mastites podem ser classificadas usando uma escala para determinar a severidade da mastite (Tabela 1). Em mastites subclínicas, apenas as CCS e o nível de bactérias no leite estão aumentados sem presença de sinais clínicos. A condutividade do leite aumenta antes de haver alterações visíveis no úbere. Alterações no leite são detetáveis no grau I ou suave de MC, com a presença de coágulos no leite, no grau II ou moderado existem alterações no leite e sinais de inflamação visíveis no úbere, e no grau III ou severo, alterações no leite, no úbere e sinais sistêmicos são observados no animal (Scott *et al.*, 2011; Lundberg, 2015).

**Tabela 1** - Escala clínica para determinar a severidade das mastites.  
(Adaptado de Scott *et al.*, 2011)

	<b>Não-Infetado</b>	<b>Subclínica</b>	<b>Clínica: leve (Grau I)</b>	<b>Clínica: moderada</b>	<b>Clínica: severa (Grau III)</b>
<b>Vaca</b>	Normal	Normal	Normal	Normal	+
<b>Úbere</b>	Normal	Normal	Normal	+	+
<b>Leite</b>	Normal	Normal	+	+	+
<b>CCS</b>	Normal	+	+	+	+
<b>Bactérias</b>	Normal	+	+	+	+

As infecções intramamárias (IIM) são a causa mais comum de mastites e são definidas como infecções do tecido secretor da glândula mamária e/ou dos ductos e túbulos (International Dairy Federation [IDF], 2011). Muitos microrganismos conseguem infectar o úbere, no entanto

bactérias, especialmente *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e coliformes são os agentes patogénicos mais comuns associados a mastites (Lundberg, 2015).

Apesar de numerosas espécies de bactérias, algas e leveduras isoladas em casos clínicos de mastites, a maioria dos agentes podem ser classificados em contagiosos e ambientais. A tabela 2 mostra os agentes causadores de mastites mais frequentes, encontrados em explorações leiteiras.

**Tabela 2** - Agentes etiológicos contagiosos e ambientais de mastites em vacas leiteiras (Adaptado de Blowey & Edmonson, 2000).

Agentes Contagiosos	Agentes Ambientais
<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia Coli</i>
<i>Streptococcus agalactiae</i>	<i>Streptococcus uberis</i> *
<i>Streptococcus dysgalactiae</i> *	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Mycoplasma</i> spp.	<i>Bacillus cereus</i>
<i>Corynebacterium bovis</i>	<i>Pasteurella</i> spp.
<i>Staphylococci</i> coagulase negativos	<i>Proteus</i> spp.
	<i>Enterobacter aerogenes</i>
	Leveduras, algas e fungos

\*considerado por alguns autores de carácter ambiental e contagioso (Radostits *et al.*, 2006)

### Agentes contagiosos

Os agentes contagiosos vivem no úbere ou na pele do teto e entram pelo canal do teto durante a ordenha. Os agentes contagiosos mais importantes são *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae* e *Streptococcus dysgalactiae*.

*Mycoplasma* spp., *Corynebacterium bovis* e *Staphylococcus* coagulase-negativos são menos comuns, mas podem causar problemas significativos em explorações (Scott *et al.*, 2011).

Os organismos contagiosos estão bem-adaptados para sobreviver e crescer na glândula mamária e frequentemente causam infeções que duram semanas, meses ou anos e a transmissão ocorre normalmente durante a ordenha (National Mastitis Council [NMC], 2010).

Os agentes contagiosos estão mais associados a mastites crónicas ou subclínicas e a transmissão é feita através de fomites com leite contaminado, utilização de panos contaminados na limpeza dos tetos, mãos do ordenhador e pela máquina da ordenha (Biggs, 2009).



Estes agentes são conhecidos por provocar surtos em explorações, em que um grande número de animais fica infectado num curto espaço de tempo (Britten, 2006).

Os programas de controlo para mastites contagiosas baseiam-se na melhoria das condições de higiene e desinfecção das vacas e dos materiais utilizados na ordenha, ou seja, na melhoria da rotina de ordenha e no refugo de animais infectados, de maneira a interromper a transmissão vaca-a-vaca.

#### **1.1.1. *Streptococcus agalactiae***

São cocos Gram-positivos e são responsáveis por causar mastites subclínicas ou clínicas subagudas. Dá origem a contagens celulares elevadas e a perdas de produção significativas. *Streptococcus agalactiae* é um microrganismo que não coloniza o tecido glandular e infecta principalmente a cisterna e o sistema ductal da glândula mamária, causando irritação e inflamação da glândula, e raramente apresenta sinais clínicos. A acumulação de desperdícios bacterianos intensifica a resposta inflamatória, resultando em destruição do tecido secretor de leite, reduzindo a produção de leite ou causando agalaxia. *Streptococcus agalactiae* raramente causa mastite severa, no entanto, a longo prazo pode ocorrer fibrose no quarto afetado e este deixar de ser produtivo nas lactações seguintes (Archbald, 1999; NMC, 2010, Sanchez, 2016).

É um agente pouco isolado quando se cumprem todas as boas práticas de ordenha (Lombard, Slyke, Welcome, Schukken, & Koprak, 2008), uma vez que a sua sobrevivência no ambiente da exploração fora da glândula mamária é difícil. A transmissão ocorre principalmente através das tetinas contaminadas, das mãos dos ordenhadores ou dos panos de limpeza dos tetos (Biggs, 2009).

#### **1.1.2. *Staphylococcus aureus***

São cocos Gram-positivos, sendo a maioria das suas estirpes coagulase-positiva e provocam geralmente mastites subclínicas, crónicas ou clínicas por vezes gangrenosas. É encontrada na pele do úbere, nas amígdalas, no trato urogenital inferior, no trato respiratório superior dos animais e nas mãos do ordenhador. A sua transmissão ocorre, principalmente, durante a ordenha através das mãos dos ordenhadores e das tetinas contaminadas (Radostits *et al.*, 2006).

O úbere infectado é a fonte de infecção mais importante, e o organismo coloniza nas lesões da pele dos tetos e no canal do teto, passando posteriormente para o interior da glândula mamária. Este agente provoca mais danos no tecido secretor do que *Strep. agalactiae* e diminui a produção de leite, tendo sido observado perdas de 45% por quarto e de 15% da produção em vacas infectadas (NMC, 2010).

A bactéria lesiona o sistema ductal e estabelece infecções em pontos profundos do tecido secretor de leite, levando posteriormente à formação de abscessos, com bactérias no interior. Este fenómeno de encapsulamento com tecido cicatrizado é um dos responsáveis pela taxa reduzida de cura de mastites por *Staph. aureus*. Durante o início da infecção, o dano é mínimo e reversível, no entanto, os abscessos podem libertar bactérias que iniciam o processo infeccioso noutras zonas da glândula, com formação de mais abscessos e causando danos irreversíveis. Ocasionalmente as infecções por *Staph. aureus* podem causar mastites hiperagudas com gangrena. Esta mastite hiperaguda gangrenosa, apresenta-se geralmente no início da lactação. A apresentação é brusca, com febre elevada, depressão profunda e anorexia. O quarto afetado surge inicialmente inflamado, doloroso e com coloração alterada. Posteriormente surgem zonas gangrenosas e de necrose, produzida por trombose venosa com edema local e congestão do úbere que termina em necrose tecidual (NMC, 2010; Morcuende, 2016).

Existem vários fatores de risco que influenciam a prevalência da infecção por este agente, nomeadamente: introdução de vacas infectadas, inadequada desinfecção dos tetos antes e após a ordenha, transmissão através das tetinas, diagnóstico inapropriado e tratamento impróprio dos casos clínicos, mau funcionamento e limpeza insuficiente da sala de ordenha, tratamento desapropriado das vacas secas e política de refugio (Biggs, 2009).

### **1.1.3. *Mycoplasma***

*Mycoplasma* spp. podem provocar algumas doenças em bovinos, entre as quais, otites médias, inflamação do trato urogenital, artrites, pneumonias e mastites (Fox, 2012). O primeiro reservatório do agente é o aparelho respiratório de vacas e vitelas, que se podem comportar como portadores assintomáticos (Fernández, 2016).

A espécie mais prevalente, responsável por causar estas doenças em vacas leiteiras é *Mycoplasma bovis*. Este agente frequentemente origina mastites clínicas agudas, mas por vezes pode originar casos de mastite subclínica. Nas mastites por *Mycoplasma bovis* os quartos infectados podem estar aumentados de volume e o leite pode apresentar apenas alguns

coágulos, mas também pode variar desde um leite aguado até um leite rosado com uma textura grossa e arenosa (Lévesque, 2004).

Pode suspeitar-se também de mastite por *M.bovis*., quando existem várias vacas com MC em mais de um quarto, mas que continuam a comer e têm poucos sinais sistêmicos de doença. Os casos de mastite por *M.bovis* não respondem ao tratamento e geralmente as vacas afetadas mostram uma marcada diminuição na produção de leite ou deixam de produzir (NMC, 2010).

As vacas infetadas podem ter um elevado nível de CCS e eliminar organismos por períodos variáveis. Pode ainda haver lesão do tecido secretor produzindo fibrose e abscessos no úbere com ou sem aumento dos gânglios linfáticos supramamários (NMC, 2010).

*Mycoplasma* spp. não é detetado pelas culturas microbiológicas que são usadas por rotina, uma vez que não há evidência de crescimento, pelo que se deve suspeitar de mastites por este agente quando a produção diminui bruscamente (Lévesque, 2004).

Não se conhecem tratamentos eficazes para vacas afetadas por mastites por *M.bovis*, pelo que estas vacas devem ser consideradas como infetadas de forma crónica. O controlo deste tipo de infeção deve basear-se na identificação e separação dos animais infetados (Sanchez, 2016).

### **Agentes Ambientais**

Os agentes ambientais sobrevivem no ambiente que rodeia as vacas, entram no úbere por propulsão através do canal do teto (durante a ordenha, por ação capilar, introdução de tubos de antibiótico ou cânulas) ou por penetração passiva do canal do teto imediatamente após a ordenha.

*Escherichia coli* e *Streptococcus uberis* são os agentes ambientais mais significativos, apesar de *Pseudomonas aeruginosa*, outros coliformes, *Bacillus cereus*, leveduras e *Pasteurella* spp. também serem importantes. Vários fatores ambientais, como falta de higiene e ambiente húmido, podem resultar na multiplicação de *E. coli* e consequentemente no aumento da incidência de mastites por coliformes. Estudos recentes demonstraram a importância de infeções ambientais durante o período seco (especialmente por coliformes) (Scott *et al.*, 2011).

#### 1.1.4. *Escherichia coli*

Bacilo Gram-negativo, é um dos microrganismos ambientais mais prevalente responsável por causar mastite e é o principal agente das mastites hiperagudas no final do período seco e no início da lactação. Está presente em grande quantidade nas fezes e a infecção ocorre frequentemente em vacas estabuladas, quando as condições ambientais são húmidas e há falta de higiene, sendo as infecções por *E. coli* consideradas oportunistas e de curta duração (Güler & Gündüz, 2007). Existem várias apresentações de mastites clínicas causadas por *E. coli*:

- Mastite clínica hiperaguda: ocorre durante o início da lactação (60% dos casos ocorrem nos primeiros dois meses de lactação) e a vaca apresenta sinais clínicos muito severos, com agalaxia e toxemia súbita. Anorexia, depressão severa, extremidades frias (particularmente as orelhas) e febre (40-42°C) são os sinais clínicos iniciais de uma infecção hiperaguda. Nas primeiras horas, este quadro clínico pode ser confundido com hipocalcémia pós-parto, uma vez que passadas seis a oito horas a vaca permanece caída e a temperatura diminui. Os quartos afetados estão normalmente inchados e quentes. A secreção da glândula mamária inicialmente é aguada, podendo ficar amarelada (Radostitis *et al.*, 2006; NMC, 2010).
- Mastite clínica aguda: a glândula mamária pode apresentar vários graus de inflamação, e a vaca tem febre e inapetência. As secreções da glândula são aquosas a serosas e contêm flocos. O animal recupera em poucos dias com tratamento adequado (Radostitis *et al.*, 2006). A incidência de mastites clínicas por coliformes é maior no início da lactação e diminui progressivamente à medida que a lactação avança (Fernández, 2016).
- Mastite subclínica: as únicas alterações detetáveis são o aumento das CCS e do número de bactérias no leite. A razão pela qual algumas vacas desenvolvem MC aguda e outras MSC está relacionada com a resposta imunitária de cada animal.

A exposição de quartos saudáveis a organismos ambientais, pode ocorrer em qualquer altura da vida da vaca, inclusivamente durante a ordenha, entre ordenhas, durante o período seco e antes do parto em novilhas.

### 1.1.5. *Streptococcus uberis*

*Streptococcus uberis*, são cocos Gram-positivos e encontram-se muito difundidos no meio ambiente, especialmente em parques de cama quente, podendo conter mais de  $10^6$  bactérias por grama de cama de palha. A maioria das infecções ocorre nos primeiros meses de lactação ou no fim do período de secagem (Radostitis *et al.*, 2006). As estirpes de *Strep. uberis* são muito heterogêneas, e podem comportar-se como microrganismos ambientais ou contagiosos, o que poderá depender da capacidade de adaptação ao hospedeiro (Fernández, 2016).

Podem ocorrer surtos em vacas em pastagem, especialmente no verão, através da transmissão por contacto do solo infetado com o teto. Assim, como acontece com a *E. coli*, novas IIM durante o período seco, têm demonstrado um papel importante na epidemiologia de infecções por *Strep. uberis*. Os sinais clínicos de infecção por *Strep. uberis* variam desde infecções subclínicas a infecções clínicas severas, com quartos quentes, duros e inchados. O animal pode apresentar temperatura elevada durante 24 horas, mas sem sinais tão graves de doença como no caso de mastites por coliformes (Blowey & Edmonson 2010; Scott, 2011). Segundo Radostits e colegas (2006), alguns serotipos de *Strep. uberis* são capazes de resistir à fagocitose dos neutrófilos.

Na tabela 3 é possível observar a evolução da incidência de mastites causada por diferentes agentes nos anos de 1968, 1995 e 2007. É visível uma diminuição significativa nos casos de mastites por *Staph. aureus* e um aumento proporcional na percentagem de mastites ambientais por *E. coli* e *Strep. uberis*. Note-se também que o número total de casos de mastites clínicas decresceu acentuadamente de 121 casos por 100 vacas no ano de 1968, para 50 casos em 100 vacas no ano de 1995 e 47 casos em 100 vacas no ano de 2007.

Pelo contrário, a percentagem de agentes ambientais aumentou de 23% em 1968 para 43% em 2007 (Hill, 1981; Booth, 1993; Bradley, Leach, Breen & Green, 2007).

**Tabela 3** - Diminuição da incidência de mastites contagiosas entre 1968, 1995 e 2007 e o aumento proporcional de mastites ambientais por *E. coli* e *Streptococcus uberis*. (Adaptado de Hill, 1981; Booth, 1993; Bradley et al. 2007).

Casos de mastites clínicas %			
Tipo	1968	1995	2007
<b>Coliformes</b>	5.4	26	19.8
<i>Streptococcus agalactiae</i>	0	0	0
<i>Staphylococcus aureus</i>	37.5	15.4	3.3
<i>Streptococcus dysgalactiae</i>	20.1	10.8	1.5
<i>Streptococcus uberis</i>	17.7	32	23.5
<b>Outros</b>	16.3	15.8	0
<b>Número de casos por vaca/ano</b>	121	50	47

## 2. Impacto Económico

As mastites são o problema de saúde mais frequente dos bovinos leiteiros, seguido dos problemas podais, infertilidade, hipocalcémia puerperal e retenção placentária (National Animal Health Monitoring System [NAHMS], 2007).

Para além da doença mais frequente, é a que tem maior impacto económico na produção leiteira, sendo diretamente responsável por quebras na produção e qualidade do leite, consequentemente aumentando os custos de produção nas explorações de leite (Bradley, 2002; Kvapilík, Hanuš, Bartoň, Klimešová & Roubal. 2015; Rocha, 2016). Esta doença, representa cerca de 38% da totalidade dos custos com doenças (Kossaibati & Esslemont, 1997), obtendo valores semelhantes aos custos resultantes de problemas podais e reprodutivos (Hogeveen, Huijps & Lam, 2011; Kvapilík, *et al.*, 2015).

O impacto económico e as repercussões das mastites, tanto nas suas formas clínica como subclínica fazem-se representar por consequências diretas ou indiretas, consoante a forma como influenciam a economia da exploração de leite. Por fatores ou custos diretos entendem-se aqueles, que por terem uma relação clara com a doença são, na maioria das situações as mais visíveis para o produtor e, por isso, as mais simples de contabilizar. Em contrapartida, os fatores ou custos indiretos são mais complexos de determinar, pela ausência de uma relação direta causa-efeito (Serrenho, 2015). Alguns exemplos destes fatores estão enumerados na tabela 4.

**Tabela 4** - Consequências económicas das mastites: custos diretos e indiretos.  
(Adaptado de Petrovski *et al.*, 2006)

Diretos	Indiretos
Tratamentos e serviços veterinários	1. Perdas por quebra na produção
Leite descartado	2. Refugo e custos de reposição
Mão-de-obra adicional	3. Penalizações monetárias por diminuição da qualidade do leite 3.1. Contagem células somáticas 3.2. Contagem de microrganismos totais 3.3. Resíduos de antibióticos no leite do tanque
Mortalidade	4. Risco de contágio entre animais e relação das mastites com outras doenças
Casos reincidentes	

O objetivo final da indústria leiteira é maximizar a rentabilidade das suas operações. Atualmente a rentabilidade depende mais da redução dos custos do que do aumento dos ganhos/lucros. Desde 1990 até aos dias de hoje, foram realizados vários estudos com o intuito de avaliar o impacto económico das mastites e conhecer quais as melhores práticas de manejo na exploração para minimizar custos, no entanto, os resultados obtidos são muito díspares (Halasa, Huijps, Osteras & Hogeveen, 2007).

Pesquisas efetuadas a nível internacional, estimam que as perdas económicas associadas a mastites podem ir dos 69 € aos 428 € para mastites clínicas, e 102-130 € por caso, para as mastites subclínicas, com grandes diferenças entre explorações (Serrenho, 2015).

Jones e Bailey (2009) obtiveram resultados com perdas anuais entre 1.5 e 1.8 biliões de euros nos EUA. Este valor, correspondia a 11% da produção anual de leite. As principais causas para as perdas económicas foram: a redução da produção de leite (89.7€), a rejeição do leite para venda (21€) e recuperação das vacas (29€), por vaca num ano.<sup>1</sup>

A tabela 5 ilustra como diferentes autores, ao longo dos anos e em diferentes países, realizaram vários estudos com o intuito de estimar os custos desta patologia e determinar o seu impacto nas explorações de leite.

O impacto económico das mastites deve ser abordado a nível da exploração, pois depende de múltiplas condições, epidemiológicas, administrativas e económicas locais e regionais, assim como de características específicas das vacas e do manejo da exploração. Existe abundante

<sup>1</sup> Convertido de 1\$ para 0.88€ (Abril de 2016).

informação sobre os custos das mastites, mas esta não é consistente na sua metodologia e as variações próprias da doença fazem com que as comparações sejam difíceis. A prevenção das mastites é a melhor forma para diminuir a problemática do impacto económico, ajudando na redução dos índices de mastites clínicas e subclínicas (Halasa *et al.*, 2007; Nielsen, 2009; Østerås, Dairies & Ås, 2000).

As decisões, na hora de solucionar os prejuízos causados pelas mastites, podem ser tomadas de acordo com várias perspetivas: do quarto (secagem de quartos), da vaca (tratamento ou abate de vacas com mastites clínicas ou subclínicas), da exploração (mudanças na gestão da vacaria, a nível de higiene e tratamentos preventivos), nacional (melhoria de serviços veterinários e de controlo) (Hogeveen, 2005).

**Tabela 5** - Valor aferido para o impacto económico das mastites em diversos estudos publicados (Adaptado de Serrenho, 2015)

Referência bibliográfica	País	Custos
<b>Mastites clínicas</b>		
<b>Ostergaard <i>et al.</i> (2005)</b>	Dinamarca	347€/caso
<b>Halasa <i>et al.</i> (2009)</b>	Holanda	186€/caso 49€/vaca/ano
<b>Nielsen (2009)</b>	Suécia	275€/caso
<b>Mastites subclínicas</b>		
<b>McInerney <i>et al.</i> (1992)</b>	Reino Unido	102€/caso
<b>Steeneveld <i>et al.</i> (2007)</b>	Holanda	115€/caso
<b>Nielsen (2009)</b>	Suécia	60€/vaca/ano
<b>Impacto económico das mastites</b>		
<b>Aires (2005)</b>	Portugal	249€/vaca/ano
<b>Ostergaard <i>et al.</i> (2005)</b>	Dinamarca	148€/vaca/ano
<b>Huijps <i>et al.</i> (2008)</b>	Holanda	78€/vaca/ano
<b>Serrenho (2015)</b>	Portugal	147€/vaca/ano

A distribuição dos custos deve servir de guia para determinar um programa de prevenção e controlo de mastites. A redução dos custos é o benefício oculto de um programa de mastites que desperta um produtor para melhorar a saúde do úbere e cria um mercado para a medicina veterinária preventiva. Estes benefícios podem não ser muito evidentes e calcular um valor para aumentar a margem de lucro, por vezes torna-se difícil (Østerås, 2000; Halasa *et al.*, 2007).

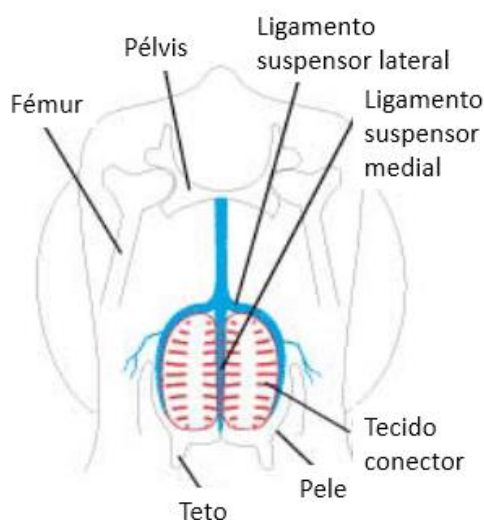


### **3. Fisiologia da glândula mamária**

A glândula mamária deriva de uma glândula sudorípara modificada. O seu desenvolvimento começa no início da vida fetal, no segundo mês de gestação iniciando-se a formação dos tetos, e o desenvolvimento continua até aos seis meses. O feto com seis meses já tem o úbere quase desenvolvido, com quatro glândulas separadas e um ligamento mediano, tetos e cisternas. Os ductos e o tecido secretor do úbere desenvolvem-se entre a puberdade e o parto. As células do úbere continuam a crescer em tamanho e número, durante as primeiras cinco lactações, e a capacidade de produção leiteira aumenta correspondentemente. A glândula mamária das vacas leiteiras divide-se em quatro compartimentos, cada um contendo um teto. O leite que é sintetizado numa glândula, não passa para nenhuma das outras glândulas. O lado direito está separado do lado esquerdo por um ligamento suspensor medial, enquanto os quartos dianteiros e os quartos traseiros estão mais separados difusamente (Figura 2) (Blowey & Edmondson, 2010).

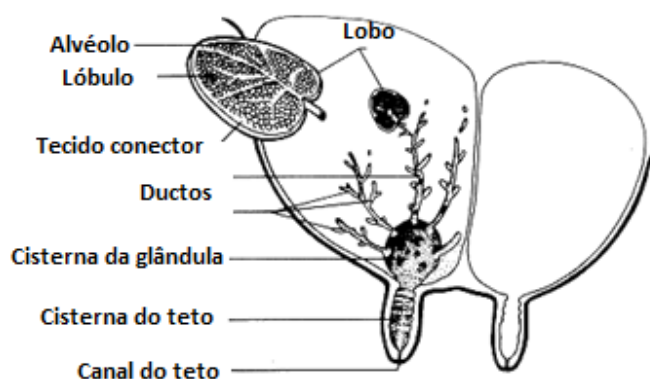
Cada quarto é composto pela cisterna do teto, cisterna da glândula, ductos galactóforos e tecido conector (Figura 3) (Lévesque, 2004). O leite é produzido pelas células epiteliais alveolares, que delimitam os alvéolos que, por sua vez, estão rodeados por células mioepiteliais. Quando a ocitocina estimula a descida do leite, estas células contraem-se, libertando o leite dos alvéolos para os ductos, fluindo daí para a cisterna da glândula e em seguida, para o teto (Davidson & Staberfeldt, 2007).

**Figura 2** - Estrutura suspensora do úbere de uma vaca leiteira.  
(Adaptado de Sandholm *et al.*, 1995).



O leite produzido pela glândula mamária é armazenado nas cisternas da glândula e do teto, bem como nos ductos galactóforos e passa no momento da ordenha pelo conduto do teto, constituído por um conjunto de fibras musculares circulares, cuja contração determina a oclusão do canal do teto, formando um esfíncter. Cerca de 60 - 80% do leite é armazenado nos alvéolos e nos ductos, enquanto que apenas 20-40% é armazenado nas cisternas (Birgel, 2004).

**Figura 3** -Anatomia da glândula mamária.  
(Acedido em fev. 8 de 2016 <http://nongae.gsnu.ac.kr/cspark/teaching/chap10.html>)



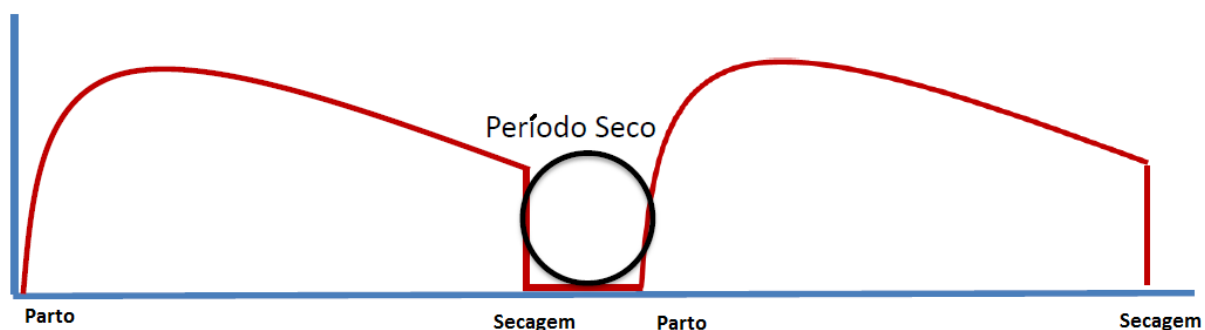
O úbere das vacas leiteiras de hoje tem uma enorme capacidade de produzir e armazenar leite, pelo que é fundamental uma boa irrigação para haver o fornecimento dos nutrientes

necessários à produção de tanto leite. Para a produção de um litro de leite é necessária a circulação pelo úbere de 400 a 500 litros de sangue, o que na vaca leiteira corresponde a aproximadamente 280 ml de fluxo de sangue por segundo (Biggs, 2009).

#### 4. Período seco

O período seco (PS) é uma fase crucial do ciclo de lactação de uma vaca leiteira, pois, é um período de mudança anatômica e fisiológica da vaca, principalmente da sua glândula mamária. A glândula mamária das vacas leiteiras necessita de um período de descanso entre duas lactações, pois sem este, há uma sensível redução da produção de leite na lactação seguinte (Figura 4) (Foley *et al.*, 1972; Smith *et al.*, 1985; Schmidt *et al.*, 1988).

**Figura 4** - Ciclo produtivo de uma vaca leiteira  
(Adaptado de Salgueiro, 2016).



#### 4.1. Duração

A duração do período seco é controversa e é tema de várias discussões, e esta depende da média da produção leiteira da vacaria (Dingwell *et al.*, 2004). Sabe-se que para promover a saúde do úbere, o desenvolvimento do feto e a produção leiteira na lactação seguinte, a lactação normalmente deve terminar entre 60 a 45 dias antes do parto, momento este, que dá início à lactação seguinte (Kuhn, Hutchison & Lawrence 2005; Nickerson, 2010).

Tradicionalmente, a duração ótima definida para o período seco era de 60 dias e vários autores estabeleceram esta duração como ideal, baseando-se em estudos retrospectivos que sugeriam que se atingia o máximo de produção leiteira durante a lactação se esta fosse seguida deste período de tempo (Kuhn *et al.*, 2006). Nos dias de hoje, muitas vacas continuam a produzir grandes quantidades de leite 60 dias antes do parto, tornando-se num grande desafio para os produtores secar estas vacas. Num estudo realizado por Bachman (2002) verificou-se que das 29 vacas com um período seco de 34 dias, obteve-se produções de leite similares na lactação seguinte, em comparação com as 37 vacas que tiveram um período seco de 59 dias. Um período seco curto, diminui o número de alterações dietéticas, facilitando a adaptação ruminal durante o período de transição e diminuindo a incidência de desequilíbrios metabólicos após o parto (Bachman & Schairer, 2003).

No entanto, reduzir a duração do período seco para menos de 40 dias, tem sido recentemente demonstrado que diminui a produção leiteira durante a lactação seguinte (Gulay *et al.*, 2005; Rastani *et al.*, 2005; Church *et al.*, 2008; Watters *et al.*, 2008).

Na prática, períodos secos com menos de 40 dias não estão recomendados (Coppock *et al.*, 1974 *in* Kuhn *et al.*, 2006; Funk *et al.*, 1987 *in* Kuhn *et al.*, 2006), pois estes autores consideram que a duração é demasiado curta para preparar a vaca e a glândula mamária para o início da lactação.

Kuhn e colegas (2006) estabeleceram que a produção de leite em cada lactação em primíparas e vacas com duas lactações pode ser maximizada com períodos secos de 41 a 45 dias, no entanto não observaram diminuição da produção com períodos secos mais longos que 45 dias. Pelo contrário, um mínimo de 55 dias é necessário para maximizar a produção de leite em terceiras e quartas lactações. Outro parâmetro estudado foi a produção leiteira ao longo da vida da vaca, que atinge o seu máximo, com períodos secos de 41 a 55 dias após a primeira lactação e de 31 a 40 dias após a segunda lactação e seguintes (Tabela 6). Vacas com períodos secos mais curtos têm mais dias em leite (DEL) ao longo da vida, do que vacas com períodos

secos mais longos. Estes autores concluíram também que, períodos secos menores que 30 dias devem ser evitados, pois são responsáveis por uma redução da produção leiteira ao longo da vida do animal.

**Tabela 6** - Durações ideais de períodos seco conforme o número de lactações.  
(Adaptado de Kuhn *et al.*, 2006)

Número de lactações	Maximizar a produção da próxima lactação (Dias)	Maximizar a produção de leite ao longo da vida da vaca (Dias)
1	40-45	40-50
2	40-45	30-40
3 e mais	55-65	30-40

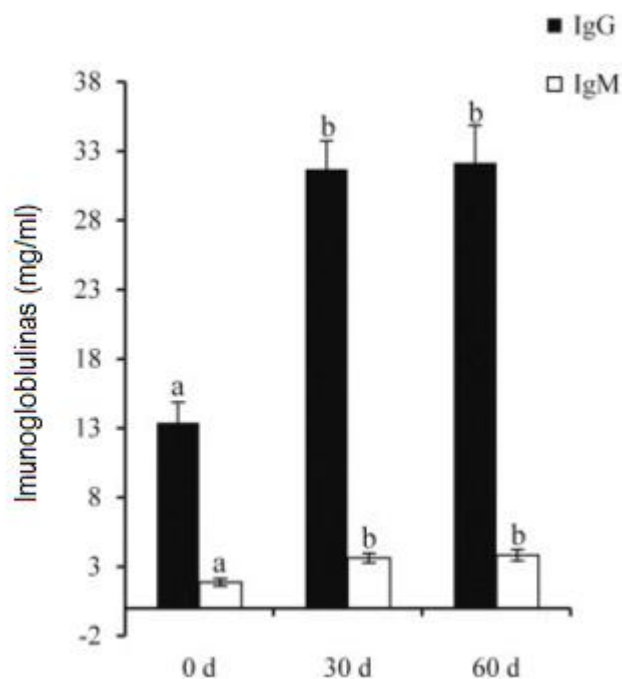
De acordo com Grummer e Rastani (2004), a ausência de período seco, resultaria na produção de um colostro pobre do ponto de vista imunológico. No entanto, um período seco de 28 dias, segundo estes autores, seria suficiente para a produção de colostro de qualidade, com teores de imunoglobulinas iguais às do colostro produzido após um período seco de 56 dias. A renovação celular mamária, não parece necessitar de um PS tão extenso como inicialmente se pensava, estimando-se suficiente uma duração de 30-40 dias (Bachman, 2002; Gulay *et al.*, 2003).

No entanto, são vários os fatores a considerar para a duração ideal do PS, entre eles o estado reprodutivo e de saúde em que se encontram as vacas, a disponibilidade de recursos (alojamento, alimento, mão-de-obra, entre outros) e certamente o nível de produção leiteira no momento.

Muitos estudos demonstraram os efeitos da ordenha continuada (ausência de período seco), reportando uma perda de 12-32% da produção durante a lactação seguinte (Lefebvre & Santschi, 2012). Inclusivamente os estudos mais recentes mencionam a importância do período seco para a produção leiteira na lactação seguinte, demonstrando que algumas vacas secam espontaneamente, de maneira a que após o parto, a produção leiteira seja mais eficiente (Andersen *et al.*, 2005; de Feu *et al.*, 2009; Klusmeyer *et al.*, 2009).

A supressão do período seco prejudica a formação de um colostro rico maioritariamente em IgG, mas também em IgM (Gráfico 1) (Mayasari *et al.*, 2015).

**Gráfico 1** - Concentração de IgG e IgM em colostros de períodos secos de 0d, 30d e 60d (Adaptado de Mayasari *et al.*, 2015).



No entanto, existem estudos que apoiam a supressão do período seco. Anderson e colegas (2005) avaliaram durante cinco semanas após o parto, 14 vacas sem período seco e 14 vacas que eram secas com 49 dias, concluindo que as vacas sem período seco experienciavam alterações no metabolismo menos severas no início da lactação uma vez que houve maior ingestão de nutrientes e menor perda destes no leite.

#### 4.2. Métodos de secagem

A interrupção do processo de ordenha, mais conhecido como o processo de secagem, pode ser feito de duas formas: interrupção abrupta da ordenha ou interrupção progressiva da ordenha. Na hora de decidir entre uma opção e outra, a questão mais determinante talvez seja, o nível de produção de leite com que chegam as vacas ao momento de secagem. Um nível alto de produção leiteira implica a acumulação de leite no úbere, que aumenta o tempo necessário para a sua reabsorção e, consecutivamente, a duração da fase involutiva do PS (Birgel, 2006).

A interrupção abrupta da ordenha é feita num dia específico, calculado de acordo com a data provável do próximo parto ou por haver uma diminuição considerável da produção leiteira da vaca, que justifique a interrupção da lactação. A interrupção progressiva da ordenha apresenta algumas variações e refere-se a vacas que no procedimento de secagem são submetidas a uma

ordenha diária, ou duas ordenhas realizadas em dias alternados, na semana antes da supressão definitiva da ordenha (Dingwell, Kelton & Leslie 2003). Este método é pensado para vacas que estejam a produzir elevadas quantidades de leite no momento da secagem.

Barton (2013) comparou os dois métodos de secagem através da análise de quatro parâmetros: produção de leite, gotejamento de leite, comportamento das vacas e CCS. No primeiro grupo fez-se interrupção abrupta da ordenha e no segundo interrupção gradual, durante cinco dias com uma ordenha por dia. As vacas de ambos os grupos receberam no dia da secagem, antibiótico intramamário, selante interno e externo. Concluiu-se que as vacas do primeiro grupo tinham uma produção mais elevada antes da secagem em relação a vacas que eram secas após cinco dias de ordenhas diárias. O decréscimo de produção leiteira em vacas secas gradualmente deve-se em parte à mudança da alimentação para uma dieta de baixa energia. Relativamente ao gotejamento de leite, foi mais incidente em vacas secas abruptamente (nos dois primeiros dias após secagem), que em vacas secas gradualmente, que apenas apresentaram gotejamento no terceiro dia. Relativamente à contagem de células somáticas não houve diferença entre as vacas dos dois grupos. Em ambos os grupos, vacas com gestação avançada e altas produtoras passavam menos tempo deitadas e mais tempo ingerindo alimento.

Para além destes resultados, Zobel e colegas (2013) comprovaram também que vacas secas abruptamente, passavam mais tempo junto ao portão (com vontade de ir à ordenha) nos oito dias após a secagem, comparativamente com vacas que foram secas gradualmente.

De acordo com Fonseca e Santos (2000), cerca de duas a uma semana antes da secagem devem ser feitas alterações na dieta das vacas leiteiras, com o objetivo de reduzir a produção leiteira, principalmente em animais com produção maior do que 15 litros de leite por dia, recomendando deixar de fornecer concentrado, sete a dez dias antes da secagem, alimentando apenas com pasto de boa qualidade, feno ou silagem.

A involução da glândula mamária é mais rápida se a interrupção for abrupta, no entanto, o risco de infeção intramamária é maior, acima de um determinado nível de produção à secagem. Num estudo realizado em 116 vacas, Rajala-Schultz e colegas (2005) concluíram que para cada aumento de 5 kg de leite à secagem acima de 12,5 kg diários, o risco de infeção intramamária aumentava 77%.

Bushe e Oliver (1987) demonstraram que a alteração da dieta antes da secagem interfere na eficiência imunológica da glândula mamária. A partir de um estudo com vacas que

produziam, no final da lactação cerca de 13 litros de leite por dia, os animais foram divididos em três grupos consoante o seu método de secagem. Um deles foi submetido à secagem abrupta, o segundo submetido à secagem gradual e o terceiro grupo foi também submetido à secagem gradual, mas com alteração na alimentação, oferecendo apenas feno na última semana de lactação. O segundo grupo teve uma produção leiteira 26,8% menor durante a última semana de lactação do que as vacas do primeiro grupo. No entanto, a produção leiteira do terceiro grupo decresceu 69,2% (de 12,8 l passou a 4 l) e as amostras de leite apresentavam maior número de células somáticas e valores mais elevados de lactoferrina, IgG e albumina. Outro dado observado nas secreções da glândula mamária de vacas dos três grupos, foi o crescimento *in vitro* de *E. coli* e *Klebsiella pneumoniae*, que foi relativamente menor no terceiro grupo em relação aos outros dois grupos.

A interrupção intermitente da ordenha diminui cerca de 22% a 47% da produção de leite na última semana de lactação (Oliver *et al.*, 1990).

Em relação à saúde do úbere, o método de secagem intermitente é mais aconselhável, uma vez que diminui a pressão exercida pelo leite no úbere e diminui a dor na glândula mamária, no entanto, devido à perda económica pela diminuição de produção de leite, este método não é utilizado pelos produtores com muita frequência.

#### **4.3. Alimentação e Maneio da Condição Corporal**

O princípio defendido na nutrição de vacas secas é ter uma alimentação que cubra as necessidades do animal, mas que não as exceda (Drackley & Dann, 2005).

Ao controlar a ingestão de energia durante o período seco obtém-se um maior sucesso na transição do período seco para o início da lactação (Drackley, 1999; Drackley, Overton & Douglas, 2001). Limitar a ingestão de nutrientes para atingir as necessidades das vacas é preferível a sobrealimentar os animais (Kunz *et al.*, 1985, *in* Drackley, 2011).

Existem dois planos alimentares no período seco, dependendo da duração deste. Em períodos secos de aproximadamente 60 dias, regra geral as vacas secas são separadas em dois grupos: vacas secas propriamente ditas (VSPD) (primeiras quatro a seis semanas do período seco) e vacas de pré-parto (VPP) (três últimas semanas do período seco ou da gestação). O segundo plano, refere-se a vacas que tenham períodos secos de apenas 35 dias, que recebem uma única dieta preparto ao longo deste período (Nogal, 2008; Dann *et al.*, 2006).



Nas últimas três semanas de gestação a vaca sofre algumas alterações, que incrementam as suas necessidades alimentares, entre as quais, o crescimento fetal e dos anexos fetais, a colostrogénese, o empobrecimento da alimentação fornecida desde o início do PS e a adaptação ruminal às alterações na dieta. Para reforçar o sistema imunitário, é imprescindível contar com a presença de nutrientes como o selénio, cobre, zinco, vitaminas A e E, carotenos e outros (Nogal, 2008).

Neste período (três semanas antes do parto) a ingestão de matéria seca diminui, atingindo o seu valor mínimo no parto. O parto e o início da lactação impõem desafios fisiológicos - no que diz respeito ao cálcio e ao balanço energético, e a imunodepressão é comum nestes animais (Retamal, 2011).

Estes desequilíbrios predis põem a vaca a doenças metabólicas, como hipocalcémia e cetoses, e outras patologias, como retenções placentárias, metrites e mastites (Goff & Horst, 1997 *in* Retamal 2011).

Para gerir um encurtamento da duração do período seco é necessário fazer algumas alterações, especialmente adquirir uma estratégia diferente de alimentação neste período.

Num período seco de 60 dias, as vacas são alimentadas a partir do momento de secagem com uma dieta com baixa energia / alta forragem até às três semanas antes de parirem, quando são transferidas para uma dieta com moderada energia, pré-parto, que se mantém até parirem. Com um período seco curto, as vacas são ordenhadas por mais 25 dias, e são secas apenas com 35 dias antes do parto. Neste caso, em vez de serem alimentadas à base da dieta de vacas secas, são mudadas diretamente para a dieta pré-parto, que dura o período seco todo, até ao dia do parto (Lefebvre & Santschi, 2012).

A principal característica do período de transição de vacas leiteiras é a alteração das necessidades nutricionais, importantes para cobrir os requisitos de energia, glucose, aminoácidos e cálcio exigidos pela glândula mamária neste período (Overton & Waldron, 2004). Bell (1995) observou que as necessidades de uma vaca leiteira gestante de 250 dias e as da mesma vaca quatro dias após o parto, triplicavam na glucose, duplicavam em aminoácidos e eram cinco vezes superiores em ácidos gordos, ao longo deste período.

Relativamente às necessidades de Ca, Horst e colegas (1997) verificaram que estas quadriplicavam no dia do parto.

Os poucos estudos que comparam a ingestão de matéria seca entre vacas com períodos secos curtos ou convencionais, relatam maior ingestão de matéria seca em vacas com períodos secos de 30-35 dias, assim como no início da lactação (Gulay *et al.*, 2003; Rastani *et al.*, 2005).

Estudos demonstram concentrações de NEFA (ácidos gordos não esterificados) e BHB (beta-hidroxibutirato) no plasma menores, no início da lactação, em vacas com períodos secos de 35-40 dias (Watters *et al.*, 2008). Estes resultados sugerem uma melhor transição, que pode ter impacto na incidência de desequilíbrios metabólicos, no entanto não apresentam animais suficientes para demonstrar o efeito do encurtamento do período seco na incidência de doenças metabólicas.

Vários autores afirmam ser vantajoso haver uma única dieta durante o período seco (Contreras, Ryan & Overton 2004). A ingestão de matéria seca é mais constante em vacas com uma dieta rica em palha e pobre em energia (Dann *et al.*, 2006) do que em vacas alimentadas com dietas com elevada energia durante o período seco. De acordo com Mann e colegas (2016), animais sobrealimentados produzem um colostro de pior qualidade, do que os animais com dietas controle, que apresentaram valores de IgG no colostro superiores.

A dieta ideal no período seco deve conter as forragens disponibilizadas no início da lactação, mas misturadas com palha ou forragens de menor qualidade de maneira a atingir uma densidade energética mais baixa. Desta forma, o rúmen continua adaptado aos ingredientes que serão fornecidos após o parto (Nogal, 2008).

As dietas típicas da vaca seca, contêm um terço de matéria seca (MS) de silagem de milho, um terço de palha picada, e o outro terço dividido entre outro feno ou silagem e uma pequena quantidade de concentrado, para fornecer as quantidades de proteína, minerais e vitaminas necessárias (Drackley, 2011).

A ingestão de MS diminui cerca de 32% durante as últimas três semanas de gestação, e 89% desse decréscimo ocorre entre cinco e sete dias antes do parto (Drackley, 1999; Drackley *et al.*, 2001). A maioria das vacas aumenta rapidamente a ingestão durante as três primeiras semanas após o parto. Estudos indicam que vacas que têm ingestão de matéria seca menor antes do parto experienciam mais desequilíbrios após parto (metríte, fígado gordo e cetose) do que vacas que comem normalmente (Grummer & Rastani, 2004).

Robinson e colegas (2001) forneceram dois tipos de dietas diferentes a dois grupos de vacas multíparas e primíparas. O grupo controle recebeu uma dieta pré-parto e o outro grupo

recebeu uma dieta suplementada com energia e proteína, quinze dias antes do parto. Os autores do estudo, determinaram que houve um aumento significativo na produção de leite durante a lactação nas vacas do grupo que recebeu a dieta com suplementação.

Outro estudo recente, efetuado em 13000 vacas em cinco vacarias nos EUA, refere a importância da dieta pré-parto, na produção de leite na lactação seguinte. As vacas que foram alimentadas durante 21 dias com a dieta pré-parto, produziram mais 1200 kg de leite na lactação seguinte relativamente às vacas que receberam a mesma dieta durante sete dias (Corbett, 2002 *in* Contreras *et al.*, 2004).

A condição corporal (CC) é uma forma de avaliar o tecido adiposo subcutâneo de um animal e é uma ferramenta utilizada internacionalmente (Edmonson *et al.*, 1989). A CC deve ser controlada ao longo de todo o ciclo reprodutivo da vaca leiteira, no entanto, perto do parto há que dar mais atenção a este parâmetro, uma vez que, neste momento, a vaca sofre alterações fisiológicas e anatómicas significativas. Uma CC elevada na altura do parto, leva a uma diminuição da ingestão de alimento, perda de peso e aumento da gordura no leite (Broster & Broster, 1998). Roche e colegas (2009) estimaram uma CC ideal ao parto indicada para a produção de leite de três a três e meio. A condição corporal durante o período seco deve ser controlada e não deve sofrer variações muito acentuadas, uma vez que está relacionada com o aumento da incidência de metrites, cetoses, deslocamentos de abomaso e hipocalcémias após o parto (Roche *et al.*, 2009).

## **5. Infecções Intramamárias no Período Seco**

### **5.1. Involução da Glândula Mamária**

Nos últimos anos, vários estudos investigaram a dinâmica das infeções intramamárias durante o período seco que, de acordo com Blowey e Edmondson (2010), varia consoante as três fases da atividade da glândula mamária durante o período seco: fase de involução ativa, período estacionário e fase de lactogénese e colostrogénese (Hurley, 1989; Nickerson, 1989; Oliver & Sordillo, 1989). Os períodos de maior risco de infeção intramamária correspondem ao de involução ativa e de colostrogénese.

## **1 – Fase de Involução Ativa**

A partir do dia em que se deixa de ordenhar, inicia-se a fase de involução do tecido secretor, o leite que se acumulou na glândula mamária é reabsorvido e há uma rápida regressão das células epiteliais da glândula mamária. Esta fase dura aproximadamente 21 a 30 dias e constitui a fase de secagem propriamente dita. Dois a três dias após a interrupção da ordenha, ocorre uma diminuição gradual do volume da secreção produzida (Hurley, 1989), sendo que no decorrer dos primeiros dez dias do período seco há uma redução de 85% do volume da secreção da glândula mamária (Anderson & Macleod, 1949 *in* Birgel, 2006; Smith *et al.*, 1967 *in* Birgel, 2006).

A composição do leite durante os primeiros dias do período seco é caracterizada pela diminuição de caseína, lactose, gordura e citrato. Por outro lado, as concentrações de imunoglobulinas, lactoferrina, sódio, cloreto, bicarbonato e albumina sérica aumentam com a interrupção da ordenha. A concentração de anticorpos IgG1, IgG2, IgA e IgM, assim como a concentração de células somáticas, aumenta marcadamente por volta do 7º dia do período seco (Nogal, 2008).

A lactoferrina é uma glicoproteína de ligação ao ferro encontrada no leite, está presente em grânulos de polimorfonucleares e é sintetizada por células do epitélio glandular da glândula mamária. O ferro é importante para o crescimento bacteriano, especialmente de enterobactérias. Num úbere não lactante, a lactoferrina liga-se reversivelmente ao ferro, minimizando a multiplicação de algumas bactérias, especialmente enterobactérias (Bradley, 2004). A lactoferrina aumenta na fase de involução da glândula mamária e mantém-se até à colostrogénese. Durante a lactação, a lactoferrina apresenta concentrações entre 0.1 e 0.3 mg/ml, mas durante a fase de involução ativa, esta sofre um grande aumento, chegando aos 20-30 mg/ml por volta dos 30 dias após a secagem (Nickerson, 2010). A lactoferrina é também imunomoduladora de leucócitos (Smith & Oliver, 1981 *in* Bradley, 2004) e atua sinergicamente com IgG1 contra *E. coli* e *Klebsiella* (Oliver & Bushe, 1987 *in* Bradley, 2004).

O citrato embora se ligue ao ferro como a lactoferrina, não impede os coliformes de o utilizarem para o seu crescimento, e sabe-se que a sua concentração diminui durante a fase de involução do úbere (Kutilla *et al.*, 2003).

As células epiteliais mamárias nas vacas parecem manter alguma atividade de síntese secretora em todo período não lactante, ao contrário do que se observa noutros mamíferos

(Sordillo, Nickerson, Akers & Oliver, 1987). Nesta fase, surgem lisossomas nas células epiteliais que são responsáveis pela sua fagocitose, enquanto que os macrófagos estão ocupados na fagocitose de outros componentes do leite, como a gordura e a caseína (Hanayama & Nagata, 2005).

## 2 – Período Estacionário

Terminada a involução da glândula mamária, esta fase é a verdadeira fase de descanso, que não tem limite temporal definido, uma vez que depende da duração do próprio período seco. No período estacionário há o predomínio de linfócitos no interior da glândula, mas também, existe um grande número de macrófagos (Smith & Todhunter, 1982 *in* Birgel, 2006). Neste período a incidência de novas infeções é pequena (Mcdonald & Anderson, 1981 *in* Birgel, 2006; Smith & Todhunter, 1982 *in* Birgel, 2006), curando-se naturalmente na maioria dos casos (Hurley, 1989). As infeções existentes são normalmente eliminadas nesta fase e quanto mais longa esta for, menor é a existência de mastites subclínicas (Kuhn *et al.*, 2006b). A menor incidência de infeções foi atribuída à maior concentração de fatores antimicrobianos (células de defesa e lactoferrina) nas secreções existentes na glândula mamária, e à menor probabilidade de penetração bacteriana através do orifício do teto, fechado pela contração do esfíncter e obstruído pelo tampão de queratina (Anderson & Mcdonald, 1981). A lactoferrina e os leucócitos encontram-se em concentrações e contagens muito elevadas, prevenindo a aquisição de novas infeções (Mallo, 2016). Embora o número de novas infeções por *E. coli* seja quatro vezes superior no período seco do que durante a lactação, a presença de lactoferrina tem um papel importante na prevenção de mastites clínicas provocadas por *E. coli*, até à lactação seguinte. Num estudo realizado por Hill (1981), foi possível verificar que o número de quartos que desenvolveram mastite clínica por *E. coli*, quando exposto a este agente, era muito superior em vacas lactantes do que em vacas secas (Tabela 7).

**Tabela 7** - Infeção experimental com *E. coli* em vacas secas e vacas em lactação.  
(Adaptado de Hill, 1981).

	Nº de quartos sujeitos a infeção	Nº de quartos que desenvolveram mastite clínica
<b>Vacas em lactação</b>	16	12
<b>Vacas secas</b>	12	2

### 3-Fase de Lactogénese e Colostrogénese

Com uma duração de aproximadamente 15 a 20 dias, dá-se a produção ou proliferação de novas células secretoras. Sete dias antes do parto há rutura dos tampões de queratina dos canais dos tetos, como consequência da progressiva acumulação de colostro no úbere. Os tetos perdem a capacidade contráctil do esfíncter por haver menor disponibilidade de cálcio plasmático nos dias que antecipam o parto e a concentração de leucócitos e lactoferrina diminui, devido à secreção de colostro (Nogal, 2008).

O volume de fluido na cisterna da glândula mamária aumenta lentamente, tendo um aumento exponencial 1 a 3 dias antes do parto (Smith & Todhunter, 1982 *in* Birgel, 2006).

Com a recuperação da atividade secretora pelas células alveolares há um gradual aumento na concentração de gordura, lactose, caseína,  $\beta$ -lactoglobulina,  $\alpha$ -lactoalbumina e citrato, presentes na secreção mamária, atingindo concentrações máximas 5 dias antes do parto (Smith & Todhunter, 1982 *in* Birgel, 2006; Oliver & Sordillo, 1989 *in* Birgel, 2006; Nickerson, 2010).

O citrato e a lactoferrina estão relacionados reciprocamente e a concentração relativamente mais elevada de citrato no leite e colostro parece diminuir as capacidades bacteriostáticas da lactoferrina durante os estádios iniciais e finais do período seco (Sordillo, 2016).

Nesta fase os microrganismos voltam a ter livre acesso ao interior da glândula mamária e a suscetibilidade a novas infeções por agentes ambientais, como *streptococcus* spp. e coliformes ambientais, aumenta antes do parto. Esta mudança é consequência do aumento do volume da glândula mamária, da dilatação do canal do teto, da redução do número de leucócitos e da sua capacidade de eliminar os microrganismos, da utilização dos componentes do leite para crescimento bacteriano e do stress associado com o parto (Nickerson, 2010).

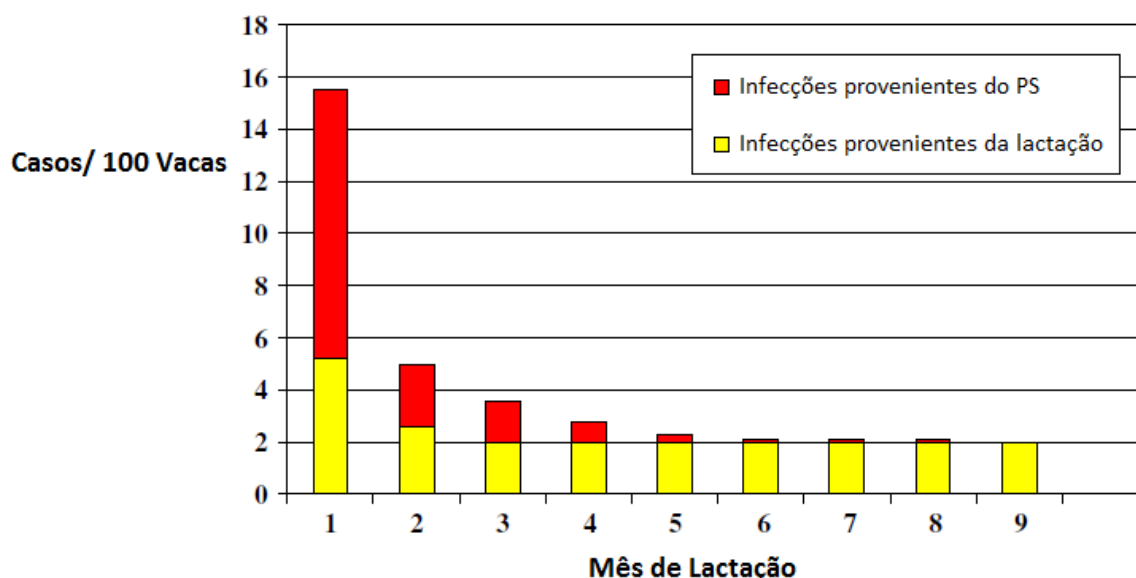
Na última fase do período seco aumenta bastante a suscetibilidade de mastites por coliformes, uma vez que as concentrações de lactoferrina e leucócitos diminuem e as de citrato aumentam, deixando o ferro disponível para o crescimento bacteriano (Kuhn *et al.*, 2006).

A hipótese de administração de lactoferina exógena no período de involução da glândula mamária, é defendida por alguns autores com a finalidade de limitar o crescimento bacteriano, principalmente de *E. coli*. (Kutilla *et al.*, 2003).

## 5.2. Incidência de novas Infecções Intramamárias

A ocorrência de novas infecções intramamárias no período seco é um dos fatores principais que afetam a manifestação de mastites clínicas no início da lactação (Gráfico 3). Nos primeiros quatro meses de lactação, Green e colegas (2002) referem que 60% das mastites clínicas são provenientes de infecções adquiridas durante o período seco (Gráfico 2).

**Gráfico 2** - Origem de novas IIM (PS ou Lactação) em casos de mastites clínicas após o parto (Dados de Green *et al.*, 2002 *in* Bradley & Green, 2004).



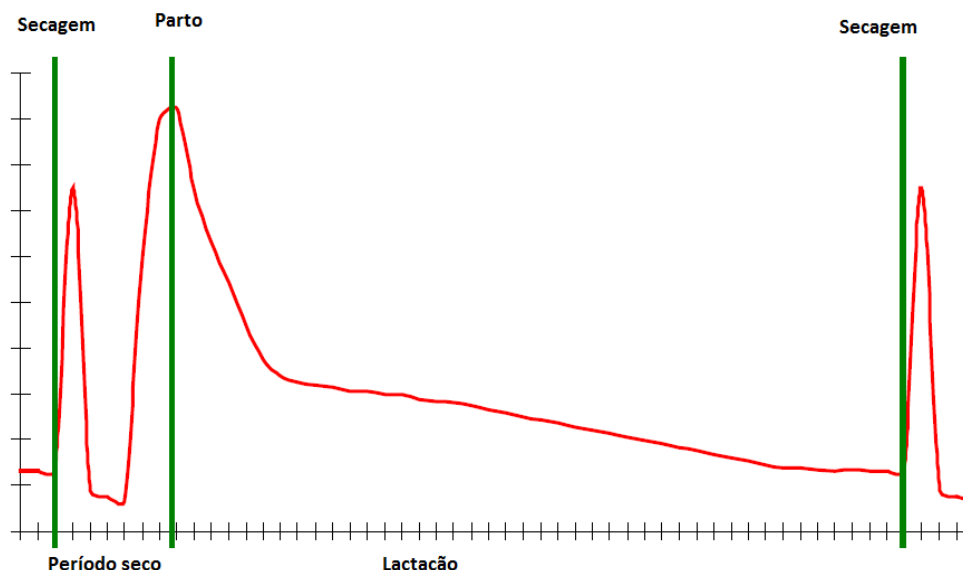
Neste período as infecções permanecem normalmente latentes, não se manifestando clinicamente até ao início da lactação seguinte. Eberhart (1982) *in* Birgel (2006), demonstrou a importância de manter a saúde do úbere no período seco, principalmente devido ao impacto que novas IIM neste período podem ter na lactação seguinte. No ano de 1950 Neave, Dodd e Henriques, concluíram que cerca de 40 a 50% dos quartos infetados durante o período seco permaneceram infetados no retorno da lactação verificando, que em metade destes animais a infecção persistiu com evidentes sintomas de mastite.

Foi demonstrado por Todhunter, Smith e Hogan (1995) que em vacas com infecções clínicas por *Streptococcus* spp. de origem ambiental, 36% das infecções foram detetadas na primeira metade do período seco. Dessas infecções, 55% das que foram adquiridas no período seco, persistiram até à seguinte lactação.

Bradley e Green (2000) verificaram num estudo que 52% dos casos de mastites clínicas por coliformes encontrados nos primeiros 100 dias de lactação, tiveram origem no período seco.

Os mesmos autores, num estudo realizado em 1999, notaram que vacas em que se isolaram agentes ambientais nas amostras de leite durante o período seco, tinham 4.5 vezes maior probabilidade de ter mastites causadas por agentes ambientais na lactação seguinte. Nesse mesmo estudo, 65% dos casos de mastites clínicas causadas por agentes ambientais tinham sido devido a infecções adquiridas no período seco.

**Gráfico 3** - Incidência de novas IIM ao longo da vida produtiva da vaca leiteira  
(Adaptado de Bradley & Green, 2004).



### 5.3. Fatores de risco

Existem alguns fatores, durante o PS, que influenciam a suscetibilidade da glândula mamária a novas IIM (Bradley, 2004). A etiologia das infecções intramamárias é multifatorial, dependendo do animal, do ambiente que rodeia o animal e dos agentes patogênicos envolvidos.

#### 5.3.1. Agentes Infecciosos

A importância do período seco no controle de mastites contagiosas é reconhecida há mais de 65 anos (Neave *et al.*, 1950). Muitos agentes infecciosos podem invadir a glândula mamária durante o período seco e ambos os microrganismos contagiosos e ambientais precisam de ser abrangidos na abordagem de controle do período seco. Estudos recentes confirmam que os agentes ambientais são a causa mais significativa para novas IIM durante o PS (Bradley,



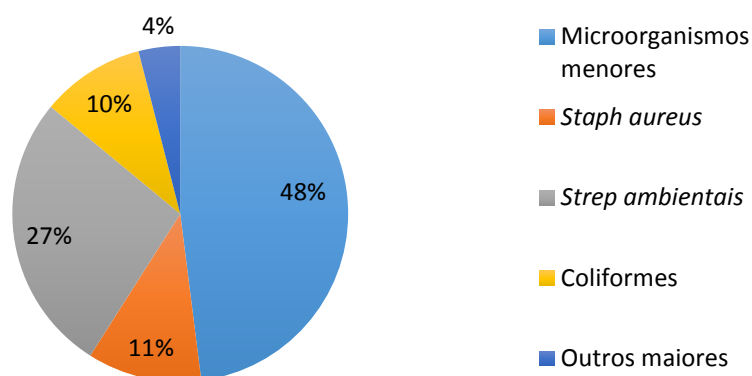
2004), deste modo, prevenir novas infecções por agentes ambientais representa um desafio considerável (Eberhart, 1986 *in* Birgel, 2006).

De acordo com vários autores, os agentes bacterianos que têm sido isolados no leite de vacas leiteiras no período seco, pertencem aos três principais gêneros bacterianos encontrados no leite de animais com ou sem mastite, sendo eles os *Staphylococcus* spp., *Streptococcus* spp. e *Corynebacterium* spp., além destes, alguns autores isolaram coliformes (Birgel, 2006).

Dingwell e colegas (2002) examinaram o desenvolvimento de novas IIM durante o período seco, confirmando que cerca de 16,7% dos quartos desenvolveram IIM durante o PS. Num estudo, realizado por estes autores, vários microrganismos patogênicos de mastites foram isolados após o parto em quartos que estavam ausentes de infecção no momento da secagem, concluindo os resultados apresentados no gráfico 4.

**Gráfico 4** - Diagnóstico de IIM durante o período seco (microrganismos menores: *Staphylococci coagulase*-negativos; outros maiores: *Proteus* spp., *Arcanobacterium pyogenes*, *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp.).

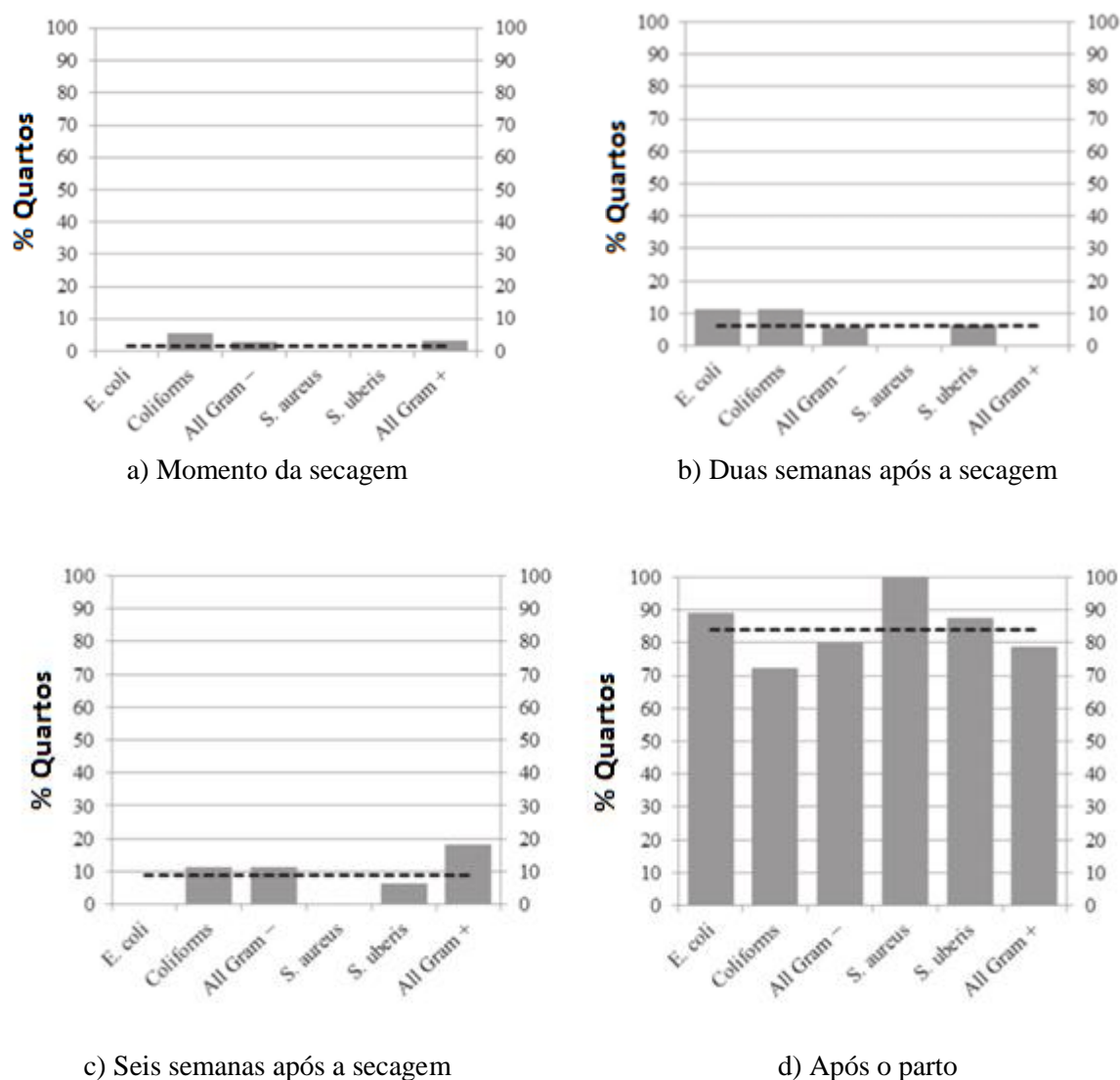
(Dingwell *et al.*, 2002)



Bradley e colegas (2015) isolaram 50 gêneros de microrganismos em quatro fases distintas: no momento da secagem, duas semanas depois, seis semanas depois e, após o parto. O estudo foi feito em 522 vacas de 12 vacarias em seis países Europeus. Estabeleceram que no primeiro período, os microrganismos mais detetados foram os coliformes seguidos de gram-negativos e os gram-positivos, no entanto com percentagens menores de 10%. Duas semanas após a secagem, cerca de 10% dos quartos estavam afetados com *E. coli*, 10% com coliformes e menos de 10% com gram-negativos e *Strep. uberis*. Nas seis semanas após o período seco a incidência nos quartos era de quase 20% de gram-positivos, 10% de *E. coli*, 10% de coliformes e menos de 10% *Strep. uberis*.

Após o parto, todos os microrganismos foram encontrados com contagens elevadas, no entanto o *Staph. aureus* esteve presente em todos os quartos, *E. coli* e *Strep.uberis* em 90% dos quartos, gram-positivos e gram-negativos em 80% dos quartos e com uma percentagem mais baixa os coliformes em 70% dos quartos (Figura 5).

**Figura 5** - Prevalência de agentes encontrados em quatro fases distintas: momento da secagem, duas semanas após secagem, seis semanas após secagem e após o parto.  
(Adaptado de Bradley *et al.*,2015)



Os agentes causadores de novas IIM durante o PS variam entre diferentes explorações e épocas do ano, assim como a região do mundo em que se encontram, sugerindo que as infeções durante o PS dependem em parte de condições externas (Bradley, 2004).

### 5.3.2. Mecanismos de Defesa dos Tetos

A primeira proteção física contra a penetração de um agente microbiano no interior da cisterna do teto e da glândula é o canal do teto, *ductus papillaris* (Nickerson, 1989). Durante o período seco forma-se um rolhão de queratina no canal do teto, prevenindo novas infecções, especialmente em casos de vacas que tenham o canal do teto aberto e que sejam altas produtoras (Blowey & Edmondson, 2010). Este rolhão mantém-se durante o PS e desaparece 7 a 10 dias antes do parto (Cousins, Higgs, Jackson, Neave & Dodd 1989 *in* Bradley 2004).

De acordo com Bramley, Dodd e Griffin (1981) se mergulhássemos os tetos numa cultura de *E. coli*, 1-10 minutos após a ordenha, cerca de 35% dos quartos sofreriam mastites. Tal valor baixaria para 5% se mergulhássemos os tetos imediatamente antes da ordenha seguinte. Esta diferença é explicada pelo facto de que após a ordenha o canal do teto se encontra mais relaxado, uma vez que não há leite no úbere a exercer pressão sobre o mesmo. Desta forma, a entrada de microrganismos é maior nesta fase, comparativamente com momentos antes da próxima ordenha, em que o úbere se encontra cheio, e exerce pressão nos tetos.

A dimensão do canal do teto influencia a entrada de microrganismos na glândula mamária e consequentemente o aparecimento de mastites. Nickerson (1989) explicou que a retenção do leite, durante os primeiros dias da fase de involução, provoca um encurtamento e uma dilatação do canal do teto, facilitando a penetração bacteriana. Vacas com um canal do teto curto e um diâmetro largo são mais propensas ao aparecimento de mastites. Estas vacas, com canal do teto mais amplo, têm um fluxo de leite mais rápido. Devido a estas características inerentes, sabe-se que haverá suscetibilidade genética para mastites, conforme o diâmetro e o comprimento do canal do teto. Pelo contrário, vacas com fluxo de leite mais lento têm menor probabilidade de infeção (Blowey & Edmondson, 2010). A velocidade de ordenha está relacionada com a produção (quanto maior a produção de leite, maior a taxa de fluxo de leite). Consecutivamente, a seleção de vacas altas produtoras levou a um aumento da taxa de fluxo de leite. De 1950 a 1990 a taxa de fluxo de leite por teto e por vaca duplicou (Grindal, Walton & Hillerton, 1991). Esta diferença aumentou a suscetibilidade das vacas para a ocorrência de mastites.

A dilatação do canal do teto, foi confirmada por Eberhart (1986), que realizou cortes histológicos do canal, destacando o lúmen dessa estrutura e demonstrando o aumento do diâmetro do canal no sétimo dia após a interrupção da ordenha. Para tal comparou-se aos

resultados obtidos no dia da interrupção da ordenha, com os do décimo sexto dia e no trigésimo dia após a interrupção da ordenha.

Para além da barreira física, a existência de ácidos gordos esterificados e não esterificados no rolhão de queratina, inibe o crescimento bacteriano (Hogan & Pankey, 1987).

Um estudo realizado por Dingwell e colegas em 300 vacas mostrou os seguintes resultados relativamente ao tempo demorado na formação do rolhão de queratina:

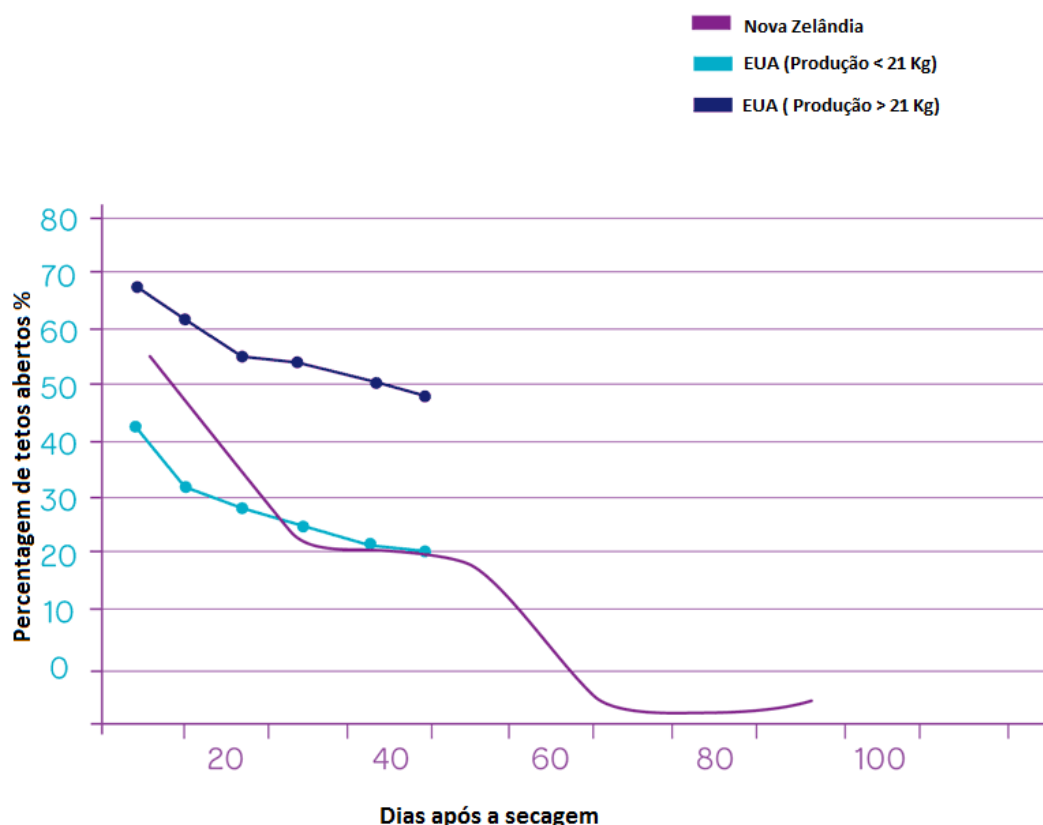
- 50% dos tetos formaram o rolhão de queratina na primeira semana do período seco;
- 23,4% dos tetos formaram o rolhão de queratina até às seis semanas do período seco.

Na segunda semana do PS, 35% dos quartos das vacas produzindo menos de 21kg diários de leite mantiveram os tetos abertos, percentagem que se elevou até 62% entre os tetos das vacas com produções superiores a 21kg (Gráfico 5).

Nestas últimas vacas (>21kg/dia), 47% dos quartos ainda estavam por fechar ao final de 6 semanas, comparando com apenas 19% dos quartos de vacas com produções inferiores a 21 kg (Dingwell *et al.*, 2003). Estes autores mostraram, também, que 28,5% das vacas que demoraram mais do que três semanas para fechar todos os quatro tetos, desenvolveram novos casos de infeções intramamárias. Num estudo realizado na Nova Zelândia, a observação da dinâmica do encerramento do canal do teto, num grupo de 756 vacas leiteiras depois da secagem, demonstrou que 50% dos tetos estavam ainda abertos sétimo dia após a secagem (Bradley & Green, 2004).

O canal do teto tem uma função vital na prevenção de novos casos de mastites, e por isso, qualquer deformação/lesão ao nível do teto compromete o mecanismo de defesa destes (Blowey & Edmondson, 2010).

**Gráfico 5** - Proporção de canais dos tetos por fechar durante o PS, em condições de campo naturais em estudos realizados na Nova Zelândia e EUA.  
(Dados de Bradley & Green, 2004 *in* Prado, 2016)



### 5.3.3. Gotejamento de Leite (*Milk leakage*)

As vacas altas produtoras são secas normalmente ainda a produzir quantidades substanciais de leite (10 a 20 kg ou mais). A interrupção da lactação aumenta a pressão interna do úbere, que resulta normalmente na saída de leite pelos tetos no início do período seco. A saída de leite apresenta-se de três formas: fluxo de leite proveniente do teto, gotas de leite no final do teto ou leite nas camas e no solo por baixo do úbere. A saída de leite, entre outros fatores, tem vindo a ser associado com o aumento de suscetibilidade para novas infeções intramamárias durante o início do período seco. A pressão exercida pelo leite no canal do teto, provoca a dilatação do mesmo, facilitando a penetração de microrganismos pelo conduto do teto (Bach, De Prado & Aris 2015; Boutinaud *et al.*, 2016). Deste modo, vacas altas produtoras, são mais suscetíveis à ocorrência de infeções intramamárias no período seco, em relação a vacas com produções de leite mais baixas (Bushe & Oliver, 1987 *in* Birgel, 2006).

O excesso de leite no úbere durante o período de involução fornece um excelente meio para o crescimento bacteriano.

O gotejamento de leite é a consequência de um mau funcionamento ao nível do esfíncter do teto em vacas leiteiras e é um fator de risco para novas IIM (Klaas, Enevoldsen, Ersbøll & Tölle, 2005). Como consequência do mau funcionamento do esfíncter do teto, ocorre perda de leite quando a vaca não está a ser ordenhada. A frequência de gotejamento de leite difere entre explorações, e dentro destas, Schukken e colegas (1993) verificaram que pode variar entre 0% a 36%.

A acumulação de leite na glândula mamária no período de secagem provoca desconforto e dor, o leite continua a ser produzido ficando acumulado e fazendo com que haja gotejamento de leite (Bach *et al.*, 2015). Foi observado também que, o aumento da pressão sobre o úbere entre ordenhas, influenciava a duração que os animais permaneciam deitados (Osterman & Redbo, 2001).

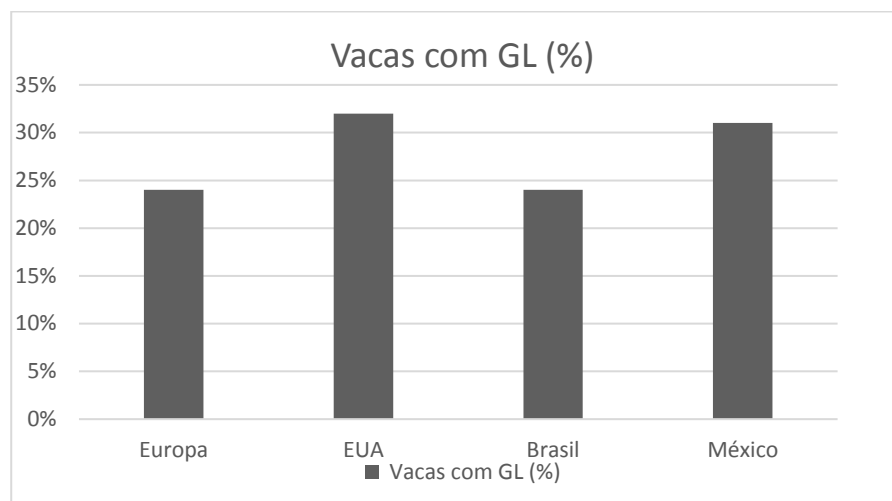
O gotejamento de leite pode ocorrer se o canal do teto estiver comprometido e danificado. A rotina e condições da ordenha (vácuo, pulsação e revestimento e utilização das tetinas) também influenciam a possibilidade de haver gotejamento de leite (Jørstad, Farver & Riemann, 1989).

Schukken, Vanliet, Vandeger e Grommers (1993) concluíram que vacas com gotejamento de leite após a secagem eram quatro vezes mais suscetíveis a desenvolver mastites clínicas e o risco de desenvolver uma IIM era seis vezes superior a vacas que não tiveram gotejamento de leite. Este aumento, poderá ser devido à entrada e colonização de bactérias na glândula mamária (Cousin *et al.*, 1980)

A percentagem de perdas de leite foi associada a um aumento da taxa de mastite clínica por *E. coli* e *Staph. aureus* em explorações com CCS baixa (Schukken *et al.*, 1993).

Foram também observadas perdas de leite em vacas secas segundo a metodologia gradual (restrição alimentar e redução do número de ordenhas), em que cerca de 30% das vacas que foram secas, perderam leite durante a semana após a secagem (Schukken *et al.*, 1993). Vários estudos realizados verificaram a percentagem de vacas com perdas de leite nos três dias após a secagem em quatro países diferentes, obtendo os resultados demonstrados no gráfico 6.

**Gráfico 6** - Percentagem de vacas com gotejamento de leite nos três dias consecutivos após a secagem na Europa (24%), EUA (32%), Brasil (24%) e México (31%). (Adaptado de De Prado, 2016).



#### 5.3.4. Fatores Ambientais

Dingwell e colegas (2002) concluíram que a gestão das vacas secas aumenta a importância com o avançar da primeira lactação para as seguintes, ao verificar que a taxa de desenvolvimento de novas IIM durante o período seco foi 11,9% na primeira lactação, 20,9% na segunda lactação, e 18,9% na terceira lactação, ou mais. As explicações mais prováveis para o aumento da suscetibilidade a mastites com o avançar das lactações são a exposição anterior ou infecção por agentes patogénicos de mastites, ou a diminuição da funcionalidade do esfíncter do teto (Ruegg, 2002).

Manter um ambiente limpo e confortável, numa exploração, é de extrema importância para controlar mastites e para manter a qualidade do leite. Uma vez que a incidência de mastites está relacionada com o grau de contaminação do teto, e especialmente do orifício do teto, é importante manter as vacas limpas e diminuir todos fatores que possam influenciar negativamente a higiene das vacas (Blowey & Edmondson, 2010).

A taxa de mastites associada a agentes ambientais encontra-se relacionada com as condições ambientais, de higiene na exploração e de manejo na ordenha. A higiene das vacas secas por vezes é negligenciada. Se em doze vacas ou novilhas, mais de uma desenvolve mastite após o parto no primeiro mês de lactação, ou se a contagem de células é alta (mais de 15% acima das 200.000) em novilhas acabadas de parir, significa que estamos na presença de infeções adquiridas no período seco, de origem ambiental. A melhoria do ambiente, a higiene no momento da secagem, a utilização selantes internos, a redução da produção antes da

interrupção da ordenha, e a diminuição das lesões nos tetos, são medidas de controlo a ter em conta, durante o período seco (Blowey & Edmondson, 2010).

Animais em recintos fechados durante o período seco apresentam uma elevada exposição aos agentes causadores de mastites (Smith *et al.*, 1985). Pelo contrário, animais que são colocados no pasto durante o período seco revelam-se menos suscetíveis ao desenvolvimento de mastites clínicas no pós-parto (Green *et al.*, 2007). A cama dos animais apresenta-se como a fonte primária de agentes ambientais entre ordenhas. No que diz respeito ao material utilizado nas camas, o material orgânico (serrim, palha, feno, composto, estrume seco, resíduos de culturas agrícolas, papel picado) apresenta nutrientes capazes de sustentar o crescimento das bactérias coliformes e *streptococci* ambientais estando assim relacionado com maiores contagens celulares em comparação com material inorgânico (areia, calcário esmagado) (Hogan *et al.*, 1989). Os *streptococci* ambientais (incluindo *Strep. uberis*) e os coliformes como *E. coli* e *Kebsiella* spp. são entre outros, os agentes encontrados no material orgânico (Smith & Hogan, 2000). Algumas mastites ambientais têm sido associadas com tipos de material específico. A humidade provocada pela urina dos animais, também influencia o crescimento bacteriano em camas com material orgânico.

Relativamente ao material inorgânico, a areia é considerada o tipo de material de cama ideal, pois, não propicia tanto o crescimento bacteriano. O número de *streptococci* ambientais e coliformes encontrados na areia são sempre menores do que os encontrados em camas orgânicas (Stowell & Inglis, 2000).

Um estudo realizado por Barkema e colegas (1999), concluiu que explorações em que as novilhas gestantes e vacas secas estavam no mesmo parque, apresentavam um risco de desenvolvimento de MC superior a explorações que apresentavam estes dois grupos de animais separados.

A densidade animal é importante para minimizar as infeções intramamárias neste período devendo ser menor no período seco do que no período de lactação (Blowey & Edmondson, 2010).

Parques com inadequada ventilação geram um microclima ao nível do solo que aumenta o nível de humidade das camas. As vacas estão duas a doze vezes mais predispostas a desenvolver novas mastites ambientais quando estabuladas no parque das vacas secas/novilhas pré-parto, relativamente ao parque das vacas lactantes. Normalmente, neste estágio da gestação, os animais estão imunodeprimidos e ainda assim, as condições de estabulação



expõem-nos a níveis elevados de agentes causadores de mastites ambientais. As vacas secas, normalmente, são estabuladas em cama de palha e regra geral há lotação das camas e a higiene destas não é a mais adequada (Smith & Hogan, 2000).

Outra medida aconselhável é o controlo das moscas uma vez, que estas podem servir de vetores, transportando organismos causadores de mastites que podem colonizar os tetos (Radostitis *et al.*, 2006).

## **6. Terapia de Secagem**

Com o objetivo de eliminar microrganismos presentes na glândula mamária no momento da interrupção da ordenha, prevenir novas infeções no período seco e diminuir a prevalência de infeções no retorno da lactação, tem sido recomendado por inúmeros autores a denominada terapia da vaca seca, utilizando diversas formulações de antibióticos de longo espectro de ação e de longa duração (Birgel, 2006).

A terapia da vaca seca foi utilizada pela primeira vez por Pearson (1951) em algumas vacas com mastite clínica no dia da secagem. Desde então a terapia tem sido realizada de forma seletiva, em vacas selecionadas, ou, em todas as vacas que serão submetidas à secagem, sendo a última forma, mais recomendada (Dingwell *et al.*, 2003). Num estudo comparativo entre vacas tratadas e vacas não tratadas no momento da secagem, Berry e Hillerton (2002) mostraram que vacas tratadas, produziram mais 179 kg de leite durante os primeiros 120 dias da seguinte lactação, tiveram dez vezes menos mastites clínicas no período seco e três vezes menos infeções no parto e 21 dias após o parto.

A terapia no período seco pode dividir-se em duas partes: a administração de um antibiótico intramamário em cada um dos quartos, para tratar infeções existentes e prevenir novas infeções, e a administração de um selante no canal do teto e na base do mesmo. Após ordenhar a fundo a vaca, de maneira a retirar todo o leite presente no úbere, limpam-se os tetos com uma solução desinfetante e procede-se à aplicação intramamária de um injetor com antibiótico específico. Os antibióticos mais utilizados no período seco fazem parte do grupo das penicilinas: a cloxacilina, cefalosporinas, nafcilina e penicilina com estreptomicina (Blowey & Edmondson, 2010).

A resposta ao tratamento é mais eficaz durante o período seco do que durante a lactação, especialmente, porque no período seco se podem utilizar doses muito mais elevadas de

antibióticos, sem a preocupação de obter resíduos destes no leite (Blowey & Edmondson, 2010).

Segundo Berry e Hillerton (2002) e Dingwell e colegas (2003) a antibioterapia de longa ação antes da secagem, seja geral ou seletiva, é utilizada em 99% das explorações nos Estados Unidos da América, 82,8% das explorações no Reino Unido, 76,5% das explorações no Canadá e 75% das explorações na Holanda.

Todos os quartos devem ser tratados durante o período seco, e não apenas aqueles que tenham mastite no período de lactação anterior. Isto porque, muitas vacas infetadas durante a lactação, nunca apresentam sinais clínicos, algumas vacas ficam infetadas, mas não mostram contagem de células somáticas elevadas. Mesmo em vacas com contagem de células somáticas inferiores a 200.000 células/ml, nunca saberemos ao certo qual a contagem de cada quarto, pelo que um quarto pode ter contagens perto de zero células/ml, mas outro ter contagens de 800.000 células/ml. Relativamente à última possibilidade, um bom exemplo, são as formas crónicas de mastite por *Strep. uberis* (Blowey & Edmondson, 2010).

Em média, 40-50% das vacas numa exploração têm infeção bacteriana subclínica na glândula mamária. O leite apresenta-se normal, mas após cultura, é possível isolar agentes patogénicos causadores de mastites. Novas infeções desenvolvem-se em 10-15% de vacas não tratadas no período seco. Na tentativa de se conseguir uma proteção semelhante à do tampão de queratina no orifício do teto, foram desenvolvidos os selantes internos e externos ao canal do teto (Birgel, 2006).

Um dos avanços no controle de mastites nos últimos 10 anos, é sem dúvida a introdução de selantes internos no canal do teto. Os selantes internos diminuíram significativamente a incidência de mastites no início da lactação. Embora existam também selantes externos, que se aplicam no fundo do teto e permanecem durante 7 dias, estes, já são pouco utilizados nos dias de hoje. Os selantes internos são, sem dúvida, os mais eficazes e mais comumente utilizados. Estes são constituídos por um sal inorgânico, geralmente de bismuto, dissolvidos em parafina, o qual é introduzido no interior do canal do teto, errando este orifício (Dingwell *et al* 2003, Blowey & Edmondson, 2010).

O selante não tem geralmente propriedades antibacterianas, pelo que necessita de higiene estrita no momento da introdução do selante. Com a utilização de selante interno, foi possível demonstrar num estudo efetuado por Dingwell e colegas (2003) apenas 3,5% de novas

infecções intramamárias, valor significativamente menor do que a incidência de 32% de infecções em quartos mamários submetidos somente a antibioterapia após a última ordenha.

Num estudo realizado na Nova Zelândia com 1200 vacas em sete explorações, todas com contagem de células somáticas inferiores a 200.000 células/ml, Woolford e colegas (1998) dividiram as vacas em quatro grupos. O primeiro grupo não recebeu qualquer tratamento na secagem, servindo de grupo controlo. O segundo grupo e o terceiro foram tratados com antibiótico intramamário de período seco ou com selante interno. O quarto grupo recebeu tanto o antibiótico intramamário (cloxacilina) e selante interno. Os resultados confirmaram que todos os grupos que receberam tratamento tiveram uma redução de 50% no aparecimento de mastites relativamente ao grupo controlo. A incidência de novas infecções intramamárias decresceu dez vezes, e a combinação de selante e antibiótico ofereceu a melhor proteção.

Um estudo semelhante no reino unido, demonstrou que vacas que foram secas com selante interno e antibiótico tiveram uma redução de 30% na taxa de incidência de novas infecções após o parto, em relação a vacas secas apenas com selante interno (Blowey & Edmondson, 2010).

## **7. Antagonistas da Prolactina**

A prolactina é uma hormona galactopoética produzida maioritariamente pelas células lactotróficas da adeno-hipófise no cérebro (Ingram *et al.*, 1986).

No momento da secagem, a prolactina continua a ser libertada, promovendo a produção de leite e consequente acumulação e pressão sobre o úbere, provocando desconforto e dor na vaca, assim como possíveis perdas de leite através dos canais dos tetos.

Encontram-se disponíveis no mercado, moléculas capazes de inibir a prolactina, agonistas da dopamina, como a quinagolida e a cabergolina.

Num estudo recente, a injeção diária de quinagolida, comprovou reduzir a produção de leite durante a lactação (Lacasse *et al.*, 2016; Lollivier *et al.*, 2015). Para além da redução da produção de leite, a administração de quinagolida no momento da secagem demonstrou acelerar a involução da glândula mamária (Ollier *et al.*, 2013).

Outro agonista dopaminérgico existente no mercado é a cabergolina, um derivado do cliviceps (fungo) que tem elevada afinidade para os recetores D2 da dopamina. Esta

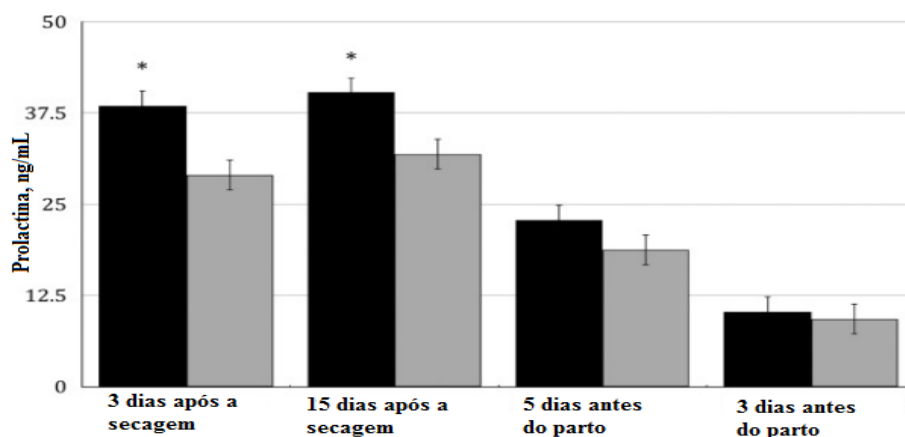
substância é utilizada em mulheres para tratar hiperprolactinémia e para suprimir a lactação (Boutinaud et al., 2016). Um estudo recente demonstrou que uma única injeção de cabergolina foi capaz de reduzir as concentrações de prolactina no plasma em vacas leiteiras no momento da secagem (Gráfico 7). Para além da supressão da lactação, a cabergolina reduziu o ingurgitamento do úbere (medido por um algómetro digital), diminuiu a incidência de gotejamento de leite e aumentou o número de horas que as vacas estavam deitadas após a secagem (Bach et al., 2015).

Outro estudo, demonstrou outro aspeto positivo da cabergolina, que induziu o aumento das concentrações de lactoferrina nas secreções mamárias analisadas. Este efeito da cabergolina na lactoferrina poderá ter sido devido ao aumento da síntese de lactoferrina pelas células epiteliais da glândula mamária ou pela libertação da lactoferrina pelas células somáticas (Pecorini et al., 2009). Embora não tenham sido observados efeitos sobre o citrato, a razão molar citrato: lactoferrina foi menor no primeiro dia após a secagem nos animais em que foi administrada cabergolina (Boutinaud et al., 2016).

Com os resultados obtidos nestes estudos é possível concluir que a administração de antagonistas da prolactina como adjuvante do tratamento de secagem poderá ter benefícios concretos na saúde do úbere ao prevenir novas infeções intramamárias, no bem-estar e conforto das vacas ao reduzir o ingurgitamento excessivo do úbere e a dor causada pelo aumento de pressão do leite e no manejo de secagem (De Prado, 2016; Boutinaud et al., 2016).

**Gráfico 7** - Concentração de prolactina no plasma em vacas tratadas com cabergolina (barras a cinzento) e vacas controlo sem tratamento com cabergolina (barras a preto) em quatro momentos diferentes.

(Adaptado de Bach et al., 2015)



## 8. O Stress na Vaca Seca

Durante os últimos meses de gestação e as primeiras semanas de lactação, as vacas estão expostas a vários fatores de stress:

- Stress fisiológico e endócrino,
- Stress nutricional: com as mudanças dietéticas que obrigam a microflora do rúmen a adaptar-se continuamente a diferentes dietas,
- Stress no úbere: diferenças abruptas na produção leiteira na secagem e após o parto,
- Stress social e ambiental: para fornecer a alimentação e os cuidados adequados, as vacas são separadas normalmente em grupos de acordo com o estágio gestacional (grupo das secas, grupo do pré-parto, maternidade, grupo das paridas) (Lefebvre & Santschi, 2012).

A acumulação de stress durante um período curto de tempo, faz com que o período de transição seja o mais crítico no ciclo de lactação da vaca. O stress do parto é inevitável, assim como todas as mudanças hormonais que acompanham este processo. No entanto a gestão de um período seco curto, poderia aliviar alguns dos outros fatores de stress. A utilização de uma única dieta nos 35 dias antes do parto permite a adaptação apropriada da microflora do rúmen. Juntamente com a redução das alterações dietéticas, vem a diminuição das mudanças de grupo, que por sua vez reduz o stress ambiental e social. Finalmente ordenhar vacas até aos 35 dias antes do parto (em vez de 60 dias) permite tempo para baixar a produção fisiológica de leite até à secagem, que reduzirá o stress imposto na glândula mamária. Um período seco de 35 dias fornece tempo adicional para o fim da lactação e tempo suficiente para os antibióticos atuarem (Lefebvre & Santschi, 2012).

Muitas vezes as condições de higiene do parque das vacas são negligenciadas, deixando os animais sujos e desconfortáveis. O ingurgitamento do úbere causa desconforto e dor, que é possível identificar através da redução do tempo que os animais passam deitados (Leitner *et al.*, 2007). Este desconforto, devido ao aumento do ingurgitamento do úbere pode levar por vezes a uma limitação dos movimentos livres dos membros posteriores (Gleeson *et al.*, 2007).

# **Estudo**

## **1. Objetivos**

O objetivo principal do estudo foi comparar a relação do gotejamento de leite após a secagem com o aparecimento de novas infeções intramamárias (IIM) durante o período seco, avaliando o aparecimento de mastites clínicas e/ou subclínicas no início da lactação.

Para além da presença de gotejamento de leite, foram analisados outros fatores de risco relacionados com o aparecimento de IIM durante o PS, como: a produção de leite total da vaca durante a lactação, a produção de leite no momento de secagem, o número de lactações, o grau de hiperqueratose dos tetos e o método de secagem utilizado (abrupta ou gradual).

## **2. Materiais e Métodos**

### **2.1. Caracterização das Explorações**

Este estudo foi efetuado em duas vacarias de produção leiteira definidas como A e B, localizadas em Sintra e Caldas da Rainha, respetivamente. A escolha destas explorações foi devido ao facto de não utilizarem selante intramamário no momento da secagem tornando possível a observação de gotejamento de leite após a interrupção definitiva da ordenha. Todas as vacas do estudo, foram secas apenas com a administração de antibiótico intramamário e a média de produção leiteira de ambas as vacarias é superior a 11000 kg/lactação, (média de 36 kg/vaca/dia).

Na vacaria A, o efetivo é composto por 646 animais, dos quais 295 vacas estão em lactação. São realizadas duas ordenhas diárias, e a média da produção de leite foi de 37,7 L/vaca/dia, no primeiro dia do estudo.

Na vacaria B, existem cerca de 470 animais, dos quais 279 estão em lactação. São também realizadas duas ordenhas por dia e a média de produção leiteira por vaca foi de 38,7 L/dia, no primeiro dia do estudo.

Para cada exploração a autora teve que preencher uma folha de registo (Anexo I) com as informações da tabela 8 adquiridas do programa Dairyplan® (GEA) de cada exploração.

**Tabela 8** - Dados registrados nas explorações A e B no início do estudo (outubro de 2015).

	<b>Vacaria A</b>	<b>Vacaria B</b>
<b>Localização</b>	Sintra	Caldas da Rainha
<b>Número total de animais</b>	646	470
<b>Número de Vacas Lactantes</b>	295	279
<b>Ordenhas/dia</b>	2	2
<b>Média de produção leiteira por vaca/dia (L)</b>	37,7	38,7
<b>CCS do tanque</b>	130000	343000
<b>Média de Casos de MC/ mês</b>	11,7	10,7
<b>Método de secagem (abrupto/gradual)</b>	Gradual	Abrupto
<b>Redução do número de ordenhas antes da secagem (Sim/Não)</b>	Sim	Não
<b>Alteração da dieta antes da secagem</b>	Sim	Não
<b>Alteração da dieta durante o PS (Sim/Não)</b>	Sim	Sim
<b>Restrição de água antes da secagem</b>	Não	Não
<b>Limite de produção leite para secar (Sim/Não)</b>	Sim (14L)	Não
<b>Antibiótico intramamário a todas as vacas</b>	Sim	Sim
<b>Selante interno (Sim/Não)</b>	Não	Não
<b>Selante externo (Sim/Não)</b>	Não	Não
<b>Antibiótico Sistêmico (Sim/Não)</b>	Não	Não

Na vacaria A, as vacas secas estão alojadas numa área com cubículos e tapete de borracha e têm acesso ao exterior, com uma área de dois hectares em terra. Existe um bebedouro, e as vacas são alimentadas duas vezes por dia.

Na vacaria B, o parque das vacas secas tem cama livre de palha com um bebedouro, sendo a comida disponibilizada apenas uma vez por dia.

## **2.2. Animais do Estudo**

Para a obtenção das informações necessárias ao estudo, foi preenchido para cada vaca, um documento (Anexo II), no qual a autora registava os dados (Tabela 9) observados e obtidos através do programa Dairyplan® (GEA) da exploração.

**Tabela 9** – Lista dos dados registrados para todos os animais do estudo

Identificação do animal
Data de Nascimento
Dia de Secagem
Número de lactações
Número de partos
Data da última IA
DEL (Dias em Leite)
Dias de Gestação
Dias para parir
Data prevista do parto
Produção de leite nas últimas 24h antes da secagem
Produção de leite aos 305 dias
Pontuação de hiperqueratose dos tetos (1,2,3,4)*
Número de tetos funcionais
Tetos com gotejamento de leite (1,2,3)*
CCS nos últimos 3 meses antes da secagem
MC nos 30 dias antes da secagem
MC nos 30 dias após o parto
CCS após o parto
CC antes do PS
CC após o parto

\*Pontuação de acordo com as figuras nos anexos III e IV

As perdas de leite foram registradas de acordo com a seguinte classificação: 1- leite sob o úbere, 2- gotejamento de leite e 3- fluxo de leite (Anexo IV).

Relativamente à hiperqueratose dos tetos, todos os tetos foram observados na totalidade das vacas em observação. Classificaram-se como vacas sem hiperqueratose, os animais com pontuações iguais a um ou dois e vacas com hiperqueratose, as que mostraram pontuações iguais a três e quatro (Anexo III).



### 2.3. Registo de Observações

No dia da primeira visita (22-26 h horas após a secagem), cada animal foi observado durante aproximadamente 30 segundos. Foi-lhe atribuído uma condição corporal, segundo a tabela em anexo III.

Com a ajuda de um espelho, cada teto foi observado e graduado segundo as imagens mostradas anteriormente. A presença de gotejamento de leite em cada quarto foi também avaliada e numerada consoante a apresentação (1, 2 ou 3).

Na segunda visita, 34-38h após secagem, cada animal foi novamente observado durante 30 segundos para observação de possível gotejamento de leite e na terceira visita, 46-50h após a secagem, repetiram-se as observações feitas na visita anterior (Tabela 10).

Após o parto, cada animal foi analisado, de maneira a observar alterações na CC, e foram recolhidos dados nos 30 dias após o parto, relativamente ao aparecimento de mastites clínicas ou subclínicas.

**Tabela 10** -Dia e horário das observações efetuadas a cada vaca do estudo

Nº visita (V)	Dia de visita (D)	Observação (h)
V1	D1	T0± 22-26
V2	D1+12h	T0± 34-38
V3	D1+24h	T0± 46-50
		T0=Dia de secagem

### 2.4. Métodos de Secagem nas Explorações

No presente estudo estiveram envolvidas duas vacarias, uma que segue a metodologia de secagem gradual (vacaria A) e outra que segue o método de secagem abrupta (vacaria B).

O método de secagem da vacaria A é intermitente, em que quatro dias antes da interrupção definitiva da ordenha, as vacas são ordenhadas uma vez por dia, exceto no dia anterior à secagem propriamente dita, em que não há recolha de leite. No dia da secagem, são ordenhadas a fundo e coloca-se o antibiótico intramamário com o princípio ativo cefquinoma (Tabela 11).

**Tabela 11 - Esquema de secagem na vacaria A**

Ordenhas	Domingo	2ª Feira	3ª Feira	4ªFeira	5ªFeira	6ªFeira
<b>Manhã</b>	X	X	X	X		X
<b>Tarde</b>	X					

Para além da redução das ordenhas antes da secagem, as vacas mudam de dieta no final da lactação para uma dieta com menos quantidade de concentrado e maior quantidade de feno-silagem, relativamente à dieta fornecida no parque das vacas altas produtoras.

No dia em que se faz a secagem propriamente dita, os animais são transferidos para o parque das vacas secas, onde passam a ter uma dieta com 40% dos nutrientes fornecidos na dieta anterior (Tabela 12).

**Tabela 12 - Dieta fornecida a cada vaca conforme a fase de produção na vacaria A**

Dieta por vaca	Colza (kg)	Silagem de Milho (kg)	Fenosilagem de Azevém (kg)	Concentrado (kg)	Milho em grão (kg)
<b>Altas produtoras</b>	2,5	11,5	12,5	5,1	7,5
<b>Final da lactação</b>	2	15	22	2,8	6
<b>Vacas secas</b>	0,8	6	8,8	1,12	2,4

Na vacaria B, o método de secagem é abrupto: as vacas quando atingem os 60-45 dias para o parto, independentemente da quantidade de leite que estejam a produzir, são ordenhadas a fundo e recebem também o antibiótico intramamário. Neste dia são transferidas para o parque das vacas secas e iniciam a dieta das vacas secas, com redução dos nutrientes, essencialmente de concentrado e silagem de milho (Tabela 13).

**Tabela 13 - Dieta fornecida a cada vaca conforme a fase de produção na vacaria B**

Dieta por vaca	Palha (kg)	Soja (kg)	Concentrado (kg)	Silagem de Milho (kg)	Feno (kg)
<b>Vacas lactantes</b>	1,4	4,6	9,4	32	
<b>Vacas secas</b>		2,1	2,7	17	2,4

## 2.5. Avaliação de ocorrência de IIM no período seco

No presente estudo foram registados os valores das CCS antes da secagem (máximo 30 dias antes da secagem) e após o parto (máximo 30 dias após o parto).

A classificação subclínica das vacas foi registada através da variação das CCS ao longo do PS, comparando as CCS antes do PS e após o parto usando as seguintes definições:

- a) **Infeção crónica:** vacas com CCS acima das 200.000 células/ml no último contraste antes da secagem e acima das 200.000 no primeiro contraste da lactação seguinte. Reflete a proporção de animais que foram secos com infeção e que mantiveram a infeção durante o PS.
- b) **Nova infeção:** vacas com CCS abaixo das 200.000 células/ml no último contraste antes da secagem e acima das 200.000 no primeiro contraste da lactação seguinte. Reflete a proporção de animais que foram secos sem infeção e que adquiriram nova infeção durante o PS.
- c) **Infeção curada:** vacas com CCS acima das 200.000 células/ml no último contraste antes da secagem e abaixo das 200.000 no primeiro contraste da lactação seguinte. Reflete a proporção de animais que foram secos com infeção, que foram capazes de curar essa infeção e não adquiriram nova infeção durante o PS.
- d) **Sem infeção:** vacas com CCS abaixo das 200.000 células/ml no último contraste antes da secagem e abaixo das 200.000 no primeiro contraste da lactação seguinte. Reflete a proporção de animais que foram secos sem infeção e que não adquiriram nova infeção durante o PS (Bexiga, 2010).

## 2.6. Análise Estatística

Após a recolha de todos os dados dos animais em estudo avaliou-se a relação entre as diversas variáveis, com a ocorrência de gotejamento de leite à secagem, ocorrência de mastites após o parto, novas infeções no período seco, paridade, produção de leite à secagem, produção de leite total, dias em leite, dias de gestação e hiperqueratose dos tetos.

Foram utilizados testes estatísticos descritivos para obter resultados de médias, frequências, incidências e prevalências. Os dados foram tratados no programa Microsoft Excel® 2010.

A ocorrência de gotejamento de leite, de mastites, hiperqueratose dos tetos e novas infeções foram codificadas binariamente (0/1) e analisadas quando consideradas variáveis de resposta,

utilizando um modelo linear generalizado com distribuição binária e a transformação em “logit” como função de ligação (Proc GLIMMIX). O programa informático utilizado foi o SAS® 9.4 (SAS Institute Inc. 2013).

Foram considerados significativos valores de  $p < 0.05$  e com tendência significativa valores de  $0.05 < p < 0.10$ .

### 3. Resultados

#### 3.1. Animais incluídos no estudo

No presente estudo foram observados 82 animais ( $n=82$ ). Na vacaria A, foram incluídos 39 animais, vacas adultas e primíparas, cruzadas de Holstein Frísia com Montbeliard e Vermelha Sueca.

Na vacaria B, foram incluídos 43 animais, vacas adultas e primíparas, sendo maioritariamente de raça Holstein Frísia.

O estudo incluiu 32 vacas com uma lactação (primíparas) e 50 vacas com duas ou mais lactações (multíparas).

#### 3.2. Incidência de gotejamento de leite

Durante as três visitas, todas as vacas do estudo foram observadas de maneira a detetar gotejamento de leite. Em 82 vacas avaliadas foi detetado gotejamento em nove vacas.

Na vacaria A, duas vacas foram encontradas com leite sob o úbere (nível 1), 36 horas após a secagem (Tabela 14).

**Tabela 14** - Vacas com gotejamento de leite (Vacaria A).

	<b>Hora</b>	<b>Teto com GL</b>	<b>Tipo de GL</b>
<b>Vaca 431</b>	36h	Indefinido	1
<b>Vaca 470</b>	36h	Indefinido	1

Na vacaria B foram vistas sete vacas com fluxo de leite (nível 3) dos tetos, de acordo com a tabela 15.

**Tabela 15** - Vacas com gotejamento de leite (vacaria B) – AD- Anterior direito, AE- Anterior esquerdo, PD- Posterior direito, PE- Posterior esquerdo.

	Hora	Teto com GL	Tipo de GL
<b>Vaca 4225</b>	48h	PD	3
<b>Vaca 1211</b>	24h	AE	3
<b>Vaca 4220</b>	36h	PD	3
<b>Vaca 1207</b>	36h e 48h	PE	3
<b>Vaca 4380</b>	36h e 48h	PD	3
<b>Vaca 4312</b>	48h	PD	3
<b>Vaca 4335</b>	36h e 48h	AE, PD e PE	3

A incidência de perdas de leite na vacaria A foi de 5,1% (2/39) e na vacaria B foi de 16,3% (7/43). A incidência de perdas de leite total (em todos os animais do estudo) foi de 10,9% (9/82).

Na primeira visita foi observado um animal (11%) com perdas de leite, na segunda visita foram observados seis animais (67%) e na terceira visita cinco animais (55%) (Tabela 16).

A presença de gotejamento de leite deu-se majoritariamente nos tetos posteriores, com uma prevalência de 86% (6/7) e apenas duas vacas tiveram perdas de leite dos tetos anteriores (28,5%). Em dois animais com perdas de leite não foi possível observar o(s) teto(s) afetado(s).

**Tabela 16** - Distribuição das observações de gotejamento de leite nas três visitas (24h, 36h e 48h após a secagem).

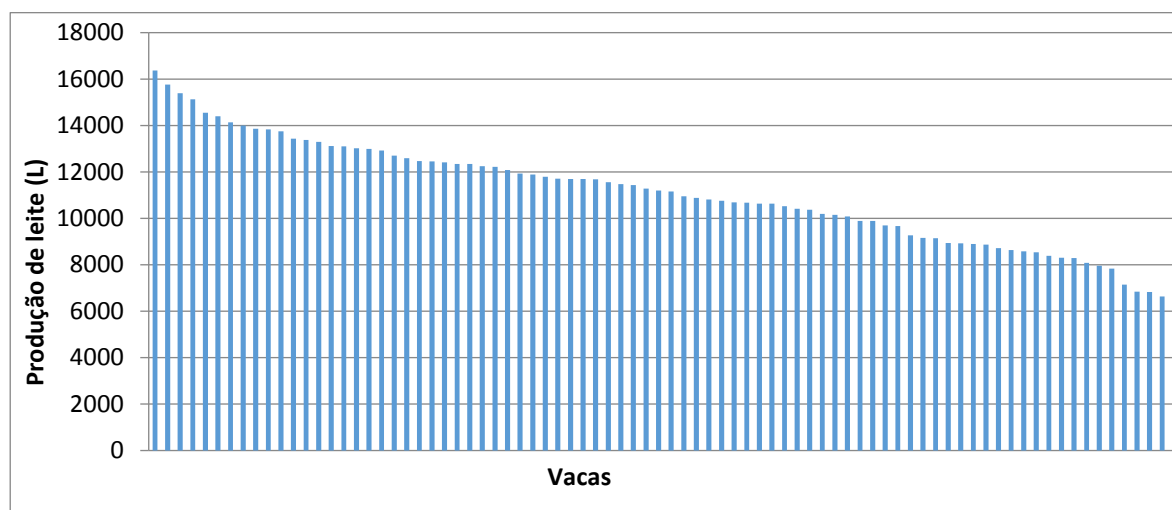
Resultados		Total	24 horas	36 horas	48 horas
<b>GL</b>	n	9	1	6	5
	%	10,9	11	67	55,5
<b>Total</b>	n	82	9	9	9

### 3.3. Produção de leite dos animais avaliados

A produção de leite durante a lactação foi registrada para cada animal segundo os dados obtidos pelo programa Dairyplan® (GEA) de cada vacaria (Gráfico 8).

Em média os animais do estudo tiveram 330 DEL, tendo a vaca com maior DEL 551 dias, e a vaca com menor DEL, 252 dias.

**Gráfico 8 - Produção total de leite (L) por animal durante a lactação.**



A média da produção leiteira do total por lactação das vacas do estudo foi de 11069 litros.

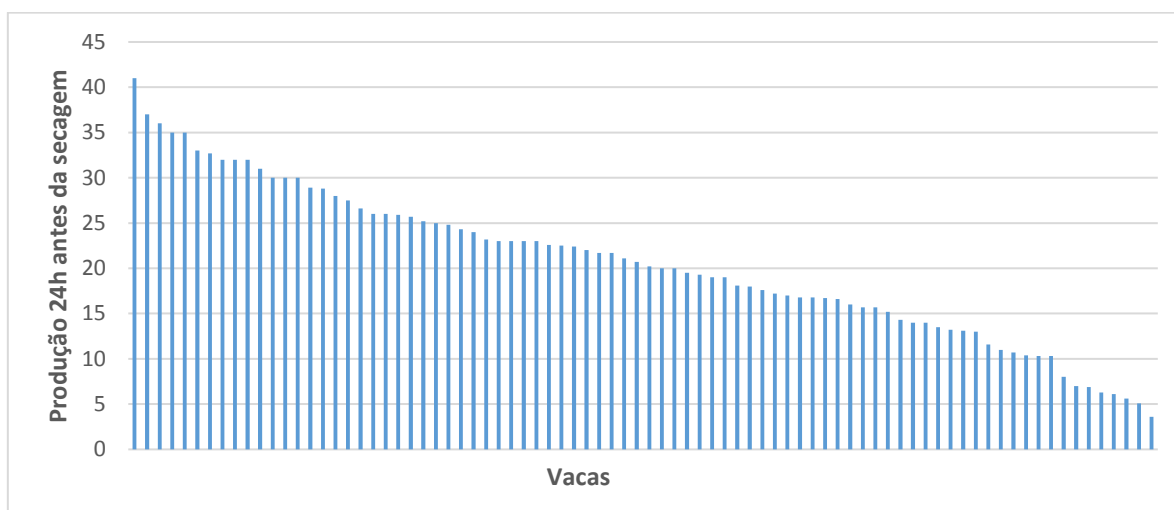
Foram consideradas altas produtoras as vacas a produzir mais de 11000 litros de leite (42), médias produtoras as vacas a produzir entre 8000 e 11000 litros de leite (33), e baixas produtoras as vacas a produzir menos de 8000 litros de leite (7).

### **3.4. Produção de leite à secagem dos animais avaliados**

A quantidade de leite produzida nas 24h anteriores à secagem foi registada em cada animal segundo os dados obtidos pelo programa Dairyplan® (GEA).

Tanto na vacaria A como na B, a interrupção da ordenha foi feita maioritariamente com produções acima dos 15 L/vaca/dia (Gráfico 9).

**Gráfico 9** -Produção de leite 24h antes da secagem na totalidade das vacas do estudo.



A média da produção de todos os animais do estudo, no dia anterior à secagem foi de: 20,5 litros.

Relativamente aos animais que apresentaram gotejamento de leite, a média da produção leiteira total e a média da produção à secagem foi mais elevada que as médias das produções dos animais que não tiveram gotejamento de leite, como se pode observar na tabela seguinte (Tabela 17).

**Tabela 17-** Média de produção leiteira total e à secagem das vacas com e sem gotejamento de leite.

	GL	n	Média (L)
<b>Produção à secagem</b>	Não	73	19,7
	Sim	9	27,2
<b>Produção Total</b>	Não	73	10938
	Sim	9	12133

### 3.5. Influência da paridade no gotejamento de leite

Na totalidade das vacas a incidência de gotejamento de leite foi de 9,3% em vacas primíparas e 12% em vacas multíparas (Tabela 18).

**Tabela 18** - Ocorrência de gotejamento de leite à secagem em vacas primíparas e multíparas.

Resultados		Primíparas	Multíparas
<b>GL</b>	n	3	6
	%	9,3	12
<b>Total</b>	n	32	50



### 3.6. Grau de hiperqueratose dos tetos

No presente estudo todos os tetos da totalidade das vacas foram observados e pontuados segundo a classificação da tabela do anexo III.

No total foram observados 328 tetos, e para cada vaca classificou-se como tendo ou não hiperqueratose dos tetos.

Trinta e cinco vacas apresentaram hiperqueratose e 47 foram consideradas saudáveis (Tabela 19).

**Tabela 19** - Frequência e percentagem de animais no estudo com hiperqueratose.

Resultados	Frequência (n)	Percentagem (%)
Com Hiperqueratose	35	42,7
Sem Hiperqueratose	47	57,3
Total	82	100

Na tabela 20 é possível observar a presença ou ausência de hiperqueratose dos tetos nas vacas que tiveram gotejamento de leite à secagem. Note-se que 55,6% das vacas com perdas de leite tinham hiperqueratose dos tetos à secagem e 44,4% tinham os tetos saudáveis.

**Tabela 20** - Presença de hiperqueratose nos tetos das vacas com gotejamento de leite à secagem.

Resultados	Com GL	Percentagem (%)
Com Hiperqueratose	5	55,6
Sem Hiperqueratose	4	44,4
Total	9	100

### 3.7. Prevalência de IIM ao longo do PS

#### 3.7.1. IIM antes do período seco

As CCS foram registradas para todos os animais antes da secagem.

Em 82 animais, 22 tinham  $CCS \geq 200.000$  células/ml. A prevalência de IIM antes do período seco foi de 26,8% (Tabela 21).

#### 3.7.2. IIM depois do parto

Após o parto, as CCS de oito vacas foram superiores a 200.000 células/ml, enquanto que os restantes animais tiveram CCS inferiores a este valor. A prevalência de IIM após o parto foi de 9,75% (Tabela 21).

**Tabela 21** - Percentagem de vacas com IIM antes do PS e após o parto.

Resultados		Antes do PS	Após o parto
IIM	n	22	8
	%	26,8	9,75
Total	n	82	82

#### 3.7.3. IIM durante o PS

Como apresentado na tabela 22, dos casos de IIM antes do PS (n=22), 14 não tiveram IIM após o parto (63,6% de infeções curadas).

Três das vacas que não tiveram IIM antes do PS (n=60), tiveram IIM após o parto (5% de novas infeções) e cinco vacas (22,7%) tiveram IIM antes do PS e após o parto (infeções crónicas).

Os restantes 60 animais, não tiveram IIM antes do PS nem após o parto, tratando-se de casos sem infeção (73,1%).

**Tabela 22** - Distribuição e classificação das IIM ao longo do PS.

Resultados		Sem Infecção	Nova Infecção	Infecção Crônica	Infecção Curada
IIM durante o PS	n	60	3	5	14
	%	73,1	5	22,7	63,6
Total	n	82	60	22	22

Observou-se também que a probabilidade de ocorrência de novas infecções intramamárias foi superior nas vacas que tiveram gotejamento de leite à secagem relativamente às vacas sem gotejamento de leite (13,7% e 2,3% respectivamente).

### 3.8. Ocorrência de mastites clínicas após o parto

No total, 14 vacas (17%) tiveram mastite clínica no período de 30 dias após o parto, sete animais em cada uma das explorações. Todos os animais foram tratados exceto dois que foram refugados por mastite. A vaca 403, foi refugada por mastite clínica por *E. coli* e a vaca 1156 foi também refugada por mastite, no entanto, não foi possível saber a etiologia da infecção.

Das 14 vacas que tiveram mastite clínica após o parto, sete (50%) não tiveram infecção durante o período seco, cinco (36%) tiveram IIM antes do período seco mas não tiveram IIM após o parto, uma (7%) teve IIM antes do PS e após o parto e uma (7%) apenas teve IIM após o parto (Tabela 23).

**Tabela 23** - Ocorrência de mastites clínicas em função de estado de infecção ao longo do período seco.

Resultados		Sem Infecção	Nova Infecção	Infecção Crônica	Infecção Curada
Mastite Clínica	n	7	1	1	5
	%	50	7	7	36
Total	n	14	14	14	14

Outro resultado observado foi a ocorrência de gotejamento de leite em 42,8% das vacas que fizeram mastite clínica após o parto (Tabela 24).

**Tabela 24** - Ocorrência de gotejamento de leite à secagem, nas vacas que adquiriram mastite clínica após o parto.

Resultados		Mastite Clínica após o parto
GL	n	6
	%	42,8
Total	n	14

### 3.9. Resultados da análise estatística

Os cruzamentos em que houve associação ( $p < 0,05$ ) estão representados nas tabelas 25, 26 e 27 e tendência para associação ( $0,05 < p < 0,10$ ) na tabela 28.

**Tabela 25** - Efeito da presença de gotejamento de leite à secagem na probabilidade de ocorrência de mastites clínicas após o parto.

	Sem gotejamento	Com gotejamento	<i>P</i>
<b>Mastite clínica pós-parto</b>	0,072± 0,0359	0,775 ±0,1538	0,0017

Na tabela 25 é possível verificar, pelo valor *p*, que há uma associação entre a presença de gotejamento de leite após a secagem e a ocorrência de mastites clínicas após o parto. A probabilidade de ocorrer mastite clínica após o parto em vacas com gotejamento de leite foi de 77,5% e em vacas sem gotejamento de leite foi de 7,2%.

**Tabela 26** - Efeito da presença de hiperqueratose nos tetos à secagem na ocorrência de mastites clínicas após o parto.

	Sem Hiperqueratose	Com Hiperqueratose	<i>p</i>
<b>Mastite clínica pós-parto</b>	0,5817± 0,1593	0,118±0,0864	0,0497

Na tabela 26 é possível verificar, através do valor *p*, que há associação entre a presença de hiperqueratose dos tetos no momento da secagem e a ocorrência de mastites clínicas após o parto. Vacas sem hiperqueratose tiveram 58,2% probabilidade de desenvolver mastite clínica após o parto comparativamente com vacas com hiperqueratose que tiveram 11,8%.

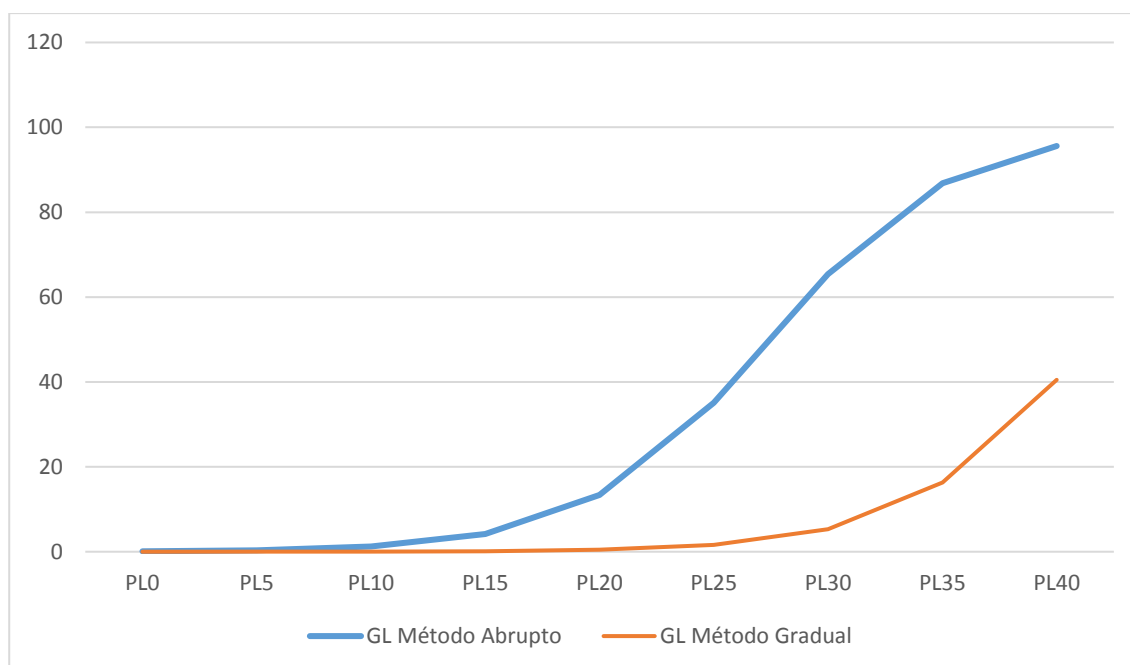
**Tabela 27** - Probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite consoante o método de secagem abrupto da vacaria B e o método de secagem gradual da vacaria A

	Secagem Abrupta (B)	Secagem Gradual (A)	<i>p</i>
<b>GL</b>	0,151± 0,0688	0,005±0,0070	0,0072

Na tabela 27 observa-se, através do valor *p*, que existe associação entre a probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite e o tipo de secagem. As vacas da exploração A (método gradual de secagem) tiveram 0,5% probabilidade de gotejar leite à secagem relativamente às vacas da exploração B (método abrupto) que tiveram 15%.

De acordo com o gráfico 10 é possível observar que a probabilidade de haver gotejamento de leite aumenta quanto maior for a produção de leite à secagem, tanto na vacaria A como na B.

**Gráfico 10** - Probabilidade de ocorrer gotejamento de leite de acordo com a produção de leite à secagem na vacaria A (laranja) e na vacaria B (azul).



Exploração B (método abrupto) - Logit (Prob. gotejar) =  $-6,87 + 0,25PL$  à secagem

Exploração A (método gradual) - Logit (Prob. gotejar) =  $-10,4 + 0,25PL$  à secagem

De acordo com a tabela 28, o valor de  $p$  revela uma tendência para a ocorrência de mastites clínicas de acordo com a paridade das vacas. A probabilidade de ocorrer mastite clínica após o parto em vacas primíparas foi de 6,3% e em vacas multíparas foi de 24%.

**Tabela 28** - Probabilidade de ocorrência de mastite clínica após o parto de acordo com a paridade das vacas (multíparas ou primíparas).

	<b>Primíparas</b>	<b>Multíparas</b>	<b><i>p</i></b>
<b>Mastite clínica após o parto</b>	0,063±0,0428	0,240±0,0604	0,0559

## **4. Discussão**

### **4.1. Incidência de gotejamento de leite**

A incidência de gotejamento de leite no presente estudo foi de 10,9%, observando-se 5% na vacaria A, e 16,3% na vacaria B.

Estes valores encontram-se no intervalo observado por Schukken e colegas em 1991, que registaram uma variação de 0 a 36% entre explorações.

Num estudo mais recente, Klaas e colegas (2005), observaram uma incidência de gotejamento de leite em 5,3% dos animais, com variação entre explorações de 1,2 a 12,3%.

A ocorrência de gotejamento de leite no presente estudo foi maior na segunda visita (36h após a secagem) e os tetos mais afetados nas vacas com perdas de leite foram os posteriores.

Vários estudos realizados na Europa, Brasil, México e EUA observaram a incidência de gotejamento de leite durante os três primeiros dias consecutivos após a secagem, tal como foi observado no presente estudo.

Na Europa, o estudo foi realizado em 41 vacarias de oito países diferentes. Nesse estudo foram observadas 1142 vacas e a incidência de gotejamento de leite foi de 24,4%. Verificou-se que a incidência de gotejamento de leite foi maior na segunda visita, ou seja, 30-36h após a secagem. Para além destes resultados, foi possível observar que as perdas de leite dependeram da produção de leite das vacas 24h antes da secagem (De Prado, 2016).

Nos EUA a incidência de perdas de leite foi de 32%, num estudo realizado em 312 vacas de três explorações diferentes. A incidência entre explorações variou desde 21 a 45% e a segunda visita foi a que teve maior número de casos de perdas de leite (De Prado, 2016).

No Brasil, 187 vacas de três vacarias diferentes foram observadas relativamente ao gotejamento de leite observado nos três dias após a secagem. Cerca de 31% das vacas tiveram perdas de leite com uma variação de 26 a 44% entre explorações (De Prado, 2016).

No México cerca de 1611 vacas de nove vacarias foram secas através do método de secagem abrupto. Aproximadamente 24% tiveram perdas de leite e a variação entre explorações foi de 17% a 47%. A segunda visita foi a que se observou maior incidência de gotejamento de leite (De Prado, 2016).

Os resultados do presente estudo relativamente à incidência de gotejamento de leite, assim como o momento em que foram observados mais casos após a secagem encontram-se de acordo a bibliografia existente.

#### **4.2. Ocorrência de mastites clínicas após o parto**

No presente estudo das 82 vacas, 14 adquiriram mastite clínica após o parto (17%). Schukken e colegas (1993) obtiveram resultados semelhantes (16%).

De acordo com Pantoja e colegas (2009), os quartos classificados com infeção crónica são mais suscetíveis a ocorrência de mastites clínicas após o parto, o que não se verificou no presente estudo.

Em 1993, um estudo conduzido por Schukken e colegas, concluiu que aproximadamente 30% das vacas tiveram perdas de leite na semana após a secagem, e o risco de ocorrerem mastites clínicas após o parto foi quatro vezes superior e o risco de desenvolver uma IIM por um agente patogénico maior, foi seis vezes superior nestas vacas do que em vacas sem gotejamento de leite. Estes autores concluíram que o gotejamento de leite estava fortemente associado com o aparecimento de mastites clínicas e IIM por um microorganismo maior no período seco.

O gotejamento de leite permite a entrada e colonização de bactérias na glândula mamária, uma vez que o canal do teto se mantém aberto. A percentagem de vacas com gotejamento de leite foi já associada com o aumento de incidência de mastites clínicas por *E. coli* e *Staph. aureus* em vacarias com CCS baixas (De Prado, 2016). No presente estudo não foi possível saber o agente causador de cada mastite clínica detetada.

O risco de infeções intramamárias aumenta quando a higiene do ambiente da vaca é pobre, especialmente a das camas. O facto de haver gotejamento de leite, proporciona um ambiente nutritivo para o crescimento bacteriano nas camas das vacas, aumentando a exposição ambiental.

#### **4.3. Infeções intramamárias durante o período seco**

Um dos objetivos do presente estudo, foi determinar o risco de aparecimento de mastites subclínicas nos primeiros 30 dias de lactação com base na variação das CCS desde o momento da secagem até ao primeiro registo após o parto. A CCS é uma ferramenta que tem vindo a ser utilizada para monitorizar mastites em explorações leiteiras (Dohoo & Leslie,



1991). Para monitorizar a dinâmica das infeções intramamárias numa exploração, é importante a avaliação mensal, a cada vaca, da concentração de células somáticas no leite (Ruegg, 2003).

A aquisição de infeções durante o período seco, a terapêutica utilizada para a secagem e o ambiente em que se encontram as vacas, têm influência na CCS no início da lactação (Bexiga, 2010). O diagnóstico de mastites subclínicas é feito com o auxílio da CCS, em que um limite de 200.000 células/ ml tem sido universalmente aceite para definir um caso de mastite subclínica (Schukken *et al.*, 1993).

As infeções intramamárias que persistem desde a lactação anterior e novas infeções intramamárias adquiridas durante o PS podem contribuir para a ocorrência de mastites clínicas e subclínicas nas lactações seguintes (Green *et al.*, 2007).

No presente estudo a prevalência de IIM antes do PS foi de 26,8% e 9,75% após o parto. Pantoja e colegas (2009) tiveram resultados um pouco inferiores antes da secagem e após o parto (12,8% e 6,9% respetivamente).

No presente estudo verificou-se que 3,5% dos animais desenvolveram IIM durante o PS, valor inferior ao resultado obtido por Pantoja e colegas em 2009 (6,5%).

Num estudo elaborado por Green e colegas (2002), quartos negativos de vacas com CCS >200.000 tiveram quase o dobro (1,9 vezes) de probabilidade de desenvolver novas IIM no período seco comparativamente com quartos de vacas com CCS <200.000.

As diferenças entre os resultados do presente estudo e os resultados de outros estudos efetuados até à data, podem ser devidas ao manejo, higiene, métodos ou tratamento de secagem alternativos, entre outros.

#### **4.4. Produção de leite total e à secagem**

No presente estudo a média de produção total das vacas foi de 11.000 litros durante a lactação. Este valor depende de vários fatores, entre eles a qualidade genética das vacas, dias em leite (DEL), alimentação, manejo e higiene da ordenha e da exploração, entre outros.

Relativamente à produção de leite à secagem, a média de produção dos animais em estudo foi de 20,5 litros de leite. Este valor depende de vários fatores, entre eles os apresentados anteriormente para a produção total, adicionando a metodologia de secagem praticada na exploração.

De acordo com Rajala-Schultz e colegas (2005) as vacas médias e altas produtoras, são mais suscetíveis à ocorrência de IIM no início do período seco, em relação a vacas com produções de leite mais baixas. A suscetibilidade para a ocorrência de IIM nestas vacas pode estar relacionada com a excessiva acumulação de leite no momento da secagem, levando a presença de gotejamento de leite (Zobel *et al.*, 2013).

Outros dados observados foram a média de produção leiteira total e a média de produção à secagem dos animais que apresentaram gotejamento de leite, registrando-se valores mais elevados que os restantes animais.

Não existem muitos estudos que relacionem a produção leiteira como fator de risco para as IIM mas sabe-se que devem ser implementadas estratégias para reduzir a quantidade de leite e gotejamento de leite no momento da secagem para minimizar o risco de novas infecções (De Prado, 2016).

Um dos primeiros estudos teve lugar na Holanda em 1993, com os autores a concluírem que o gotejamento de leite era frequente após a secagem gradual (restrição alimentar e redução do número de ordenhas), uma vez que cerca de 30% das vacas do estudo tiveram gotejamento de leite durante a semana seguinte após a secagem (Schukken *et al.*, 1993).

Outro estudo concluiu que ao reduzir a produção leiteira antes da secagem através da restrição alimentar, diminuía a percentagem de vacas a gotejar leite. Dois dias após a secagem, 14% das vacas com produções mais baixas tiveram perdas de leite, comparativamente com os 42% de vacas com altas produções (De Prado, 2016).

Num estudo recente realizado no Canadá, o efeito da produção de leite no momento da secagem na incidência de gotejamento de leite foi também avaliado. Todas as vacas do estudo foram tratadas com antibiótico intramamário, selante interno e externo. Concluiu-se que a frequência de gotejamento de leite foi maior em vacas a produzir uma média de 14,1 kg de leite comparando com as vacas a produzir 10.9 kg antes da secagem (75 *versus* 27%). Os resultados do estudo sugerem que a diminuição da produção de leite reduz a percentagem de vacas com gotejamento de leite (Zobel *et al.*, 2013).

#### **4.5. Metodologia de secagem (gradual ou abrupto)**

A interrupção abrupta da lactação tem-se tornado num problema nas vacas leiteiras modernas, que podem ter produções perto dos 25 a 30 kg/ dia no momento da secagem (Stefanon et al., 2002). Níveis de produção tão elevados no momento da secagem podem predispor a vaca à ocorrência de perdas de leite e ao aparecimento de infeções intramamárias. De acordo com o *National Mastitis Council* (NMC) a interrupção abrupta da ordenha deve ser feita quando a produção de leite por dia atinge os 15 litros. Reduzir a produção de leite antes de secar poderá reduzir a incidência de novas IIM devido ao risco acrescido de mastite associada a perdas de leite (Schukken *et al.*, 1993 in Prado, 2016).

Shcukken e colegas (1993) verificaram que ao mudar a alimentação das vacas duas semanas antes da secagem e ao diminuir o número de ordenhas três dias antes, 60% das vacas encontravam-se a produzir menos de 5 kg/dia no momento da secagem.

No presente estudo, foram observados animais de duas explorações distintas que praticam dois métodos de secagem diferentes. De acordo com a bibliografia a interrupção intermitente da ordenha tem demonstrado diminuir a produção de leite 22% a 47% durante a última semana de lactação (Oliver *et al.*, 1990) e com isto, reduzir a incidência de IIM no período seco.

De facto, a incidência de gotejamento de leite foi menor na vacaria que adota o método de secagem gradual, no entanto não podemos concluir para este estudo em questão, que o método de secagem é um fator de risco para a ocorrência de gotejamento de leite. Para podermos afirmar tal hipótese, o estudo teria de ser realizado na mesma exploração, com dois grupos de animais escolhidos aleatoriamente.

#### **4.6. Paridade das vacas**

No presente estudo a incidência de gotejamento de leite foi superior em vacas com mais de uma lactação (9,3 % - primíparas *versus* 12%- múltíparas). Apesar da incidência de gotejamento de leite ter sido superior em vacas múltíparas, não foi possível associar a paridade das vacas com a probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite.

Num estudo efetuado por Bach e colegas (2015), o número de lactações teve relevância significativa na ocorrência de perdas de leite no PS. As vacas múltíparas foram 1,94 vezes mais predispostas a ter perdas de leite do que as primíparas.

No entanto, Klaas e colegas (2005) não verificaram diferença na incidência de gotejamento de leite entre primíparas e multíparas.

Para além da incidência de gotejamento de leite, foi possível observar no presente estudo, que a probabilidade de ocorrer mastite clínica após o parto em vacas primíparas foi de 6,3% e em vacas multíparas foi de 24%.

De acordo com Gott, Rajala-Schultz, Schuenemann, Proudfoot e Hogan (2016), num estudo elaborado com 285 vacas, as primíparas tiveram maior número de quartos com IIM no PS comparativamente com vacas multíparas, no entanto a percentagem de IIM após o parto foi maior nas vacas multíparas. No mesmo estudo, vacas com três ou mais lactações tiveram seis vezes maior probabilidade de terem gotejamento de leite após o PS comparativamente com vacas com uma ou duas lactações. De acordo com Dingwell e colegas (2004) a paridade tem sido considerada um fator de risco para o aparecimento de novas IIM, sugerindo que as defesas intramamárias das vacas se degeneram com a idade. Dingwell e colegas (2002) concluíram que a gestão das vacas secas aumenta a importância com o avançar da sua idade, ao verificar que a taxa de desenvolvimento de novas IIM durante o período seco foi 11.9% na primeira lactação, 20.9% na segunda lactação, e 18.9% na terceira lactação, ou mais.

No presente estudo não foi possível observar associação entre a paridade das vacas e a taxa de desenvolvimento de novas IIM.

#### **4.7. Hiperqueratose dos tetos e ocorrência de gotejamento de leite**

A hiperqueratose dos tetos pode afetar negativamente a qualidade do leite e a saúde do úbere. Neijenhuis, Barkema, Hogeveen e Noordhuizen (2001) demonstraram que vacas com mastites clínicas tinham pior classificação de tetos (anel espessado e muito irregular) comparativamente com animais não infetados. De acordo com estes autores, lesões severas no final dos tetos estão associadas positivamente à prevalência de mastites subclínicas.

No presente estudo não houve associação entre a presença de hiperqueratose nas vacas e a ocorrência de gotejamento de leite nos três dias seguintes à secagem.

No entanto, as vacas com tetos saudáveis tiveram maior probabilidade de adquirir mastites clínicas após o parto comparativamente com as vacas com hiperqueratose dos tetos. Não foi possível encontrar justificação para este resultado.

#### 4.8. Análise da relação de variáveis

Dos resultados obtidos das relações avaliadas, obteve-se quatro associações ( $p < 0,05$ ): entre a presença de gotejamento de leite à secagem e a ocorrência de mastites após o parto, entre a presença de hiperqueratose à secagem e a ocorrência de mastites após o parto, entre o método de secagem utilizado (vacaria A ou B) e a ocorrência de gotejamento de leite e por último entre a produção à secagem e ocorrência de gotejamento de leite. A probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite e a paridade das vacas (primíparas ou multíparas) teve tendência estatística ( $0,05 < p < 0,10$ ).

Relativamente à associação entre a presença de gotejamento de leite à secagem e a ocorrência de mastites clínicas após o parto, podemos afirmar que este é um resultado esperado.

Como se pode observar na tabela 25, o risco de ocorrer mastite clínica após o parto em vacas com gotejamento de leite foi de 77,5% e em vacas sem gotejamento de leite foi de 7,2%. Estes resultados estão de acordo com os resultados obtidos por Schukken e colegas em 1993. No entanto, não houve associação entre as perdas de leite e o desenvolvimento de IIM no presente estudo, resultado este, contraditório ao que foi observado pelos autores referidos anteriormente. De facto, seria de esperar uma associação entre a presença de gotejamento de leite e o desenvolvimento de novas IIM, no entanto a incidência de novas infeções foi muito baixa no estudo em questão (5%) podendo justificar a ausência de relação entre as duas variáveis.

No que diz respeito à associação entre a presença de hiperqueratose dos tetos à secagem e a ocorrência de mastites clínicas após o parto, foi observado que as vacas sem hiperqueratose tiveram maior probabilidade de adquirir mastites clínicas após o parto comparativamente com as vacas com hiperqueratose (58,2% *versus* 11,8%). De acordo com Dingwell e colegas (2004), os tetos com hiperqueratose no momento da secagem tiveram maior probabilidade em desenvolver novas IIM no período seco do que os tetos saudáveis (15% e 10% respetivamente). De facto, seria de esperar que a presença de hiperqueratose estivesse associada à ocorrência de mastites clínicas após o parto, desta forma, não foi possível encontrar uma justificação para os resultados obtidos.

Quartos com hiperqueratose moderada a severa tiveram risco significativo de ocorrência de mastites clínicas por *E. coli* e quartos com hiperqueratose severa tiveram maior probabilidade de desenvolver mastite clínica por *Strep. uberis* (Breen, Green & Bradley, 2009). No entanto estes dados são relativos a vacas em lactação.

Com respeito à associação entre a quantidade de leite produzida no momento da secagem e a ocorrência de gotejamento de leite, os resultados obtidos encontram-se de acordo com a bibliografia. No gráfico 9 é possível verificar uma curva crescente entre probabilidade de ocorrência de perdas de leite com a produção à secagem. A curva observada no gráfico vem da regressão logística da probabilidade de gotejar em “logit” com a quantidade de leite produzido à secagem em “logit”. De acordo com Rajala-Schultz e colegas (2005), por cada 5 kg de leite produzido acima de 12,5 kg na secagem, o risco de infecção intramamária aumenta 77%.

Relativamente à associação entre o método de secagem utilizado e a ocorrência de gotejamento de leite, verificou-se que na vacaria A (método gradual) a probabilidade de gotejar foi menor comparativamente com a vacaria B (método abrupto), com 0,5% e 15% respectivamente. Podemos afirmar que este é um resultado esperado, no entanto, como explicado anteriormente, não podemos tirar conclusões significativas, uma vez que estão presentes outros fatores de risco dentro das explorações que podem ser responsáveis pela presença de perdas de leite (genética das vacas, alimentação, manejo, higiene e outros).

De acordo com Gott e colegas (2016), a interrupção gradual da ordenha diminuiu a produção de leite à secagem, mas a produção de leite à secagem não teve efeito significativo na prevalência de infecções intramamárias no parto. No presente estudo não foi observado associação entre a produção de leite à secagem e a ocorrência de infecções intramamárias.

No presente estudo a probabilidade de ocorrer mastite clínica após o parto foi maior em multíparas do que em primíparas (24% e 6,3% respectivamente). Este resultado encontra-se em concordância com os resultados obtidos por Gott e colegas (2016) e Neave e colegas (1950). De acordo com Klaas e colegas (2005), a diferença entre primíparas e multíparas poderá estar relacionada com a integridade do teto.

Embora a incidência de gotejamento de leite tenha sido maior em multíparas comparativamente com primíparas (12% e 9,3% respectivamente), não foi observada relação entre a paridade e a probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite. Klaas e colegas (2005) também não encontraram relação entre estas variáveis. No entanto Gott e colegas (2016) verificaram que as vacas com três ou mais lactações tiveram probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite seis vezes superior às vacas com uma ou duas lactações.

## Conclusão

O período seco é uma fase importante para otimizar a saúde do úbere e a qualidade do leite, assim como curar infecções existentes e prevenir a aquisição de novas infecções intramamárias. É nas fases de involução ativa e de lactogénese do período seco que a glândula mamária está mais predisposta ao desenvolvimento de novas infecções intramamárias.

De maneira a minimizar os fatores de risco associados ao aparecimento de infecções intramamárias nestas duas fases do período seco, devem ser tomadas medidas de controlo e prevenção por parte do produtor e do médico veterinário.

Um dos fatores de risco para o aparecimento de novas infecções intramamárias no período seco é a ocorrência de gotejamento de leite nos primeiros dias após a secagem.

Um dos objetivos do presente estudo foi observar a incidência de gotejamento de leite após a secagem e estudar a sua associação com a ocorrência de infecções intramamárias no período seco e nos 30 dias após o parto. Outros fatores de risco para a ocorrência de gotejamento de leite e de mastites clínicas após o parto foram analisados, entre os quais: hiperqueratose dos tetos, paridade das vacas, produção de leite total e à secagem e o método de secagem das explorações.

Foram avaliadas 82 vacas de duas explorações leiteiras observando-se uma incidência de gotejamento de leite após a secagem de 10,9%, valor em concordância com a bibliografia.

No presente trabalho, verificou-se que a probabilidade de ocorrência de mastites clínicas após o parto foi maior nos animais com gotejamento de leite nos três dias consecutivos à secagem, relativamente aos animais sem gotejamento de leite (77,5% e 7,2% respetivamente).

O estudo revelou, ainda, que existe uma associação entre a produção de leite à secagem e a ocorrência de gotejamento de leite nos três dias seguintes à secagem ( $p < 0,05$ ). Foi observado que a probabilidade de haver gotejamento de leite aumentava com o incremento de produção de leite à secagem.

Outro resultado importante do estudo foi a associação entre o método de secagem utilizado e a ocorrência de gotejamento de leite, verificando-se que na vacaria A (método gradual) a probabilidade de gotejar foi menor comparativamente com a vacaria B (método abrupto), com 0,5% e 15% respectivamente. No entanto, uma vez que se tratam de vacarias distintas, não se podem tirar conclusões significativas destes resultados.

No que diz respeito à hiperqueratose dos tetos, não houve associação com o gotejamento de leite à secagem, mas houve associação com a ocorrência de mastites após o parto ( $p < 0,05$ ). A probabilidade de ocorrência de mastites após o parto foi maior nas vacas sem hiperqueratose à secagem relativamente às vacas com hiperqueratose (58,2% e 11,8% respectivamente). Não foi possível encontrar justificação na bibliografia para este resultado.

Perante estes resultados conclui-se que a redução da produção de leite antes da secagem poderá ser benéfica na perspetiva da saúde do úbere. No entanto, existem preocupações sobre o efeito da restrição alimentar e redução da frequência de ordenha no bem-estar das vacas leiteiras, para além dos custos de mão-de-obra adicionais que o método de secagem gradual acarreta comparativamente com a secagem abrupta.

Encontrar um método de secagem que seja eficaz na redução da incidência de gotejamento de leite, do ingurgitamento do úbere e do desconforto da vaca é cada vez mais difícil nas explorações modernas, com vacas com produções de leite muito altas no momento da secagem.

É nesta procura, que é fundamental o papel do médico veterinário e do produtor, de maneira a tentar minimizar os fatores de risco associados ao aparecimento de infeções intramamárias.



## Bibliografia

- Aires, T. (2005). Análise dos “custos diretos” da ocorrência de mastites em explorações de Entre-Douro-e-Minho no ano de 2005. Relatório de Estágio. Faculdade de Medicina Veterinária-Universidade Técnica de Lisboa.
- Akers, R. M. (2006). Major advances associated with hormone and growth factor regulation of mammary growth and lactation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 1222-34.
- Andersen, J. B., Madsen, T. G., Larsen, T., Ingvarsen, K. L. & Nielsen, M. O. (2005). The effects of dry period versus continuous lactation on metabolic status and performance in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 88, 3530-3541.
- Anderson, E. O. & Macleod, P. (1949). The effect of a period of non-milking on the leucocyte count of milk. *Journal of Dairy Science*, 32, 649-651.
- Archbald, L. F. (1999). Reproductive disease: bovine mastitis. In Howard, J. L. & Smith, R.A (Ed.). *Current veterinary therapy 4: food animal practice*, 563-617. Philadelphia: W.B. Saunders Company.
- Archer, S. C., McCoy, F., Wapenaar, W. & Green, M. J. (2013). Association between somatic cell count early in the first lactation and the lifetime milk yield of cows in Irish dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 96, 2951–2959.
- Bach, A., De-Prado, A. & Aris, A. (2015). Short communication: The effects of cabergoline administration at dry-off of lactating cows on udder engorgement, milk leakages, and lying behavior. *Journal of Dairy Science*, 98, 7097-7101.
- Bachman, K. C. (2002). Milk production of dairy cows treated with estrogen at the onset of a short dry period. *Journal of Dairy Science*, 85, 797–803.
- Bachman, K. C. & Schairer, M. L. (2003). Invited review: Bovine studies on optimal lengths of dry periods. *Journal of Dairy Science*, 86, 3027–3037.
- Barkema, H. W., Deluyker H. A., Schukken Y. H & Lam, T. J. (1999). Quarter-milk somatic cell count at calving and at the first six milkings after calving. *Preventive. Veterinary Medicine*, 38, 1-9.
- Barker, A. R., Schrick, F. N., Lewis, M. J., Dowlen, H. H. & Oliver, S. P. (1998). Influence of clinical mastitis during early lactation on reproductive performance of Jersey cows. *Journal of Dairy Science*, 81, 1285-90.
- Barton, B. (2013). Gradual vs. Abrupt Cessation of Milking at Drying off in Dairy Cows. *Technical Service Representative*, Balchem.
- Bell, A. W. (1995). Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. *Journal of Dairy Science*, 73, 2804–2819.

- Bernier-Dodier, P., Girard, C. L., Talbot, B. G. & Lacasse, P. (2011). Effect of dry period management on mammary gland function and its endocrine regulation in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 94, 4922-36.
- Berry, E. A. & Hillerton, J. E. (2002). The effect of selective dry cow treatment – on new intramammary infections. *Journal of Dairy Science*, 85, 112-121.
- Bexiga, R. (2010). Saúde do úbere: Investigação de problemas de contagem de células somáticas elevadas. *Pfizer Saúde Animal*, 8-22.
- Biggs, A. (2009). Mastitis in cattle. Marlborough: The Crowood Press.
- Birgel, D. B. (2006). Processo de secagem da glândula mamária de bovinos da raça holandesa: avaliação física da involução da mama e das características físico-químicas, celulares e microbiológicas da secreção láctea durante o período seco. Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária. São Paulo: Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia - Universidade de São Paulo
- Blowey, R. & Edmondson, P. (2010). Mastitis control in dairy herds. (2ª edição). Reino Unido: Farming Press Ltd.
- Booth, J. M. (1993). Proceedings of the British Cattle Veterinary Association. In: Cattle Practice 1, 125–131.
- Boutinaud, M., Isaka, N., Lollivier, V., Dessauge, F., Gandemer, E., Lamberton, P., De Prado, A. I., Deflandre, A. & Sordillo, L. M. (2016). Cabergolin inhibits prolactin secretion and accelerates involution in dairy cows after dry-off. *Journal of Dairy Science*, 99, 1-12.
- Bradley, A. J & Green M. J. (2000). A study of the incidence and significance of intramammary enterobacterial infections acquired during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 83, 1957–65.
- Bradley, A. J. (2002). Bovine mastitis: An evolving disease. *Veterinary Journal*, 164, 116–128.
- Bradley, A. J. & Green, M. J. (2004). The importance of the nonlactating period in the epidemiology of intramammary infection and strategies for prevention. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20, 547–568.
- Bradley, A. J., Leach, K. A., Breen, J. E., Green, L. E. & Green, M. J. (2007). Survey of the incidence and etiology of mastitis on dairy farms in England and Wales. *Veterinary Record* 160, 253–258.
- Bradley, A. J, De Vlieghe, S., Green, M. J., Larrosa, P., Payne, Bvan de Leemput, Schmitt, E., Samson, O., Valckenier, D., Van Werven, T., Waldeck, H, White, V. & Goby, L. (2015) An investigation of the dynamics of intramammary infections acquired during the dry period on European dairy farms. *Journal of Dairy science*, 98, 6029-6047.
- Bramley, A. J., Dodd, F. H. & Griffin, T. K. (1987). Mastitis control and her management. Technical Bulletin nº 4, *National Institute for Research in Dairying*, Reino Unido.

- Breen, J. E., Green, M. J. & Bradley, A. J. (2009). Quarter and cow risk factors associated with the occurrence of clinical mastitis in dairy cows in the United Kingdom. *Journal of Dairy Science*, 92, 2551-2561.
- Britten, A. (2006). Getting the jump on *Mycoplasma* outbreaks. NMC 45th Annual Meeting Proceedings, Tampa, Florida, 22-25, 212-216.
- Broster, W.H. & Broster, V.J. (1998). Body score of dairy cows. *Journal of Dairy Research*, 65, 155-173.
- Bushe, T. & Oliver, S. P. (1987). Natural protective factors in bovine mammary secretion following different methods of milk cessation. *Journal of Dairy Science*, 70, 696-704.
- Busato, A., Trachsel, P., Schällibaum, M. & Blum, J. W. (2000). Udder health and risk factors for subclinical mastitis in organic dairy farms in Switzerland. *Preventive Veterinary Medicine*, 44, 205–220.
- Capuco, A. V., Akers, R. M. & Smith, J. J. (1997). Mammary growth in Holstein cows during the dry period: quantification of nucleic acids and histology. *Journal of Dairy Science*, 80, 477-487.
- Church, G. T., Fox, L. K., Gaskins, C. T. Hancock, D. D. & Gay, J. M. (2008). The effect of a shortened dry period on intramammary infections during the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, 91, 4219–4225.
- Contreras, L. L, Ryan, C. M. & Overton, T. R. (2004). Effects of Dry Cow Grouping Strategy and Prepartum Body Condition Score on Performance and Health of Transition Dairy Cows. *Journal of Dairy Science*, 87, 517–523.
- Cook, N. B., Pionek, D. A. & Sharp, P. (2005). An assessment of the benefits of Orbeseal when used in combination with dry cow antibiotic therapy in three commercial dairy herds. *Bovine Practice*, 39, 83–94.
- Coppock, C. E., Everett, R. W., Natzke, R. P., & Ainslie, H. R. (1974). Effect of dry period length on Holstein milk production and selected disorders at parturition. *Journal of Dairy Science*, 57, 712–718.
- Corbett, R. B. (2002). Influence of days fed a close-up dry cow ration and heat stress on subsequent milk production in western dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 85, 191–192.
- Cortés, J. A.V. & Acosta, P. C. (2013) Impacto económico de la mastitis bovina en la lechería tropical. XII Curso internacional teórico práctico “diagnóstico y control de la mastitis bovina”. Veracruz: Universidad Veracruzana.
- Cousins, C. L., Higgs, T. M., Jackson, E. R., Neave, F. K. & Dodd, F. H. (1980). Susceptibility of the bovine udder to bacterial infection in the dry period. *Journal of Dairy Research*, 47, 11–8.
- Dann, H. M., Litherland, N. B., Underwood, J. P., Bionaz, M., D’Angelo, A., McFadden, J., W. & Drackley, J. K. (2006). Diets during far-off and close-up dry periods affect peri-

- parturient metabolism and lactation in multiparous cows. *Journal of Dairy Science*, 89, 3563-357.
- Davidson, A. P. & Staberfeldt, G. H. (2007). La glândula mamaria. *Fisiología Veterinaria* (4ª edição). (pp.501-514). Madrid: Elsevier.
- De Feu, M. A., Evans, P. Lonergan, & Butler, S. T. (2009). The effect of dry period duration and dietary energy density on milk production, bioenergetic status, and postpartum ovarian function in Holstein Friesian dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 6011-6022.
- De Prado, A. I. (2016). The incidence and importance of milk leakage in the dry cow. *International Dairy Topics*, 14, 6.
- Dingwell, R. T., Duffield, T. F., Leslie, K. E., Keefe, G. P., DesCoteaux, L., Kelton, D. F., Lissmore, K. D., Schukken, Y. H., Dick, P. & Bagg, R. (2002). The efficacy of intramammary tilmicosin at drying-off, and other risk factors for the prevention of new intramammary infections during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 85, 3250-3259.
- Dingwell, R. T., Kelton, D. F. & Leslie, K. E. (2003). Management of dry cow in control of peripartum disease and mastitis. *The Veterinary Clinics Food Animal Practice*, 19, 235-265.
- Dingwell, R. T., Leslie, K. E., Schukken, Y. H., Sargeant, J. M., Timms, L. L., Duffield, T. F., Keefe, G. P., Kelton, D. F., Lissemore, K. D. & Conklin, J. (2004). Association of cow and quarter-level factors at drying-off with new intramammary infections during the dry period. *Preventive veterinary medicine* 63, 75–89.
- Djabri, B., Bareille, N., Beaudeau, F. & Seegers, H. (2002). Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary Research*, 33, 335–357.
- Drackley, J. K. (1999). Biology of dairy cows during the transition period: the final frontier? *Journal of Dairy Science*, 82, 2259 – 2273.
- Drackley, J. K., Overton, T.R., Douglas, G.N. (2001). Adaptations of glucose and long - chain fatty acid metabolism in liver of dairy cows during the periparturient period. *Journal of Dairy Science*, 84, 100– 112.
- Drackley, J. K. & Dann, H. M. (2005). New Concepts in Nutritional Management of Dry Cows. *Advances in Dairy Technology* 17, 11.
- Drackley, J. K., Donkin, S. S, & Reynolds, C. K. (2006). Major advances in fundamental dairy cattle nutrition. *Journal of Dairy Science*, 89, 1324-36.
- Drackley, J. K. (2011). Nutritional Management for Transition Dairy Cows. *Department of Animal Sciences*. Urbana: University of Illinois.
- Eberhart, R. J. (1982). New infections in the dry period. Annual meeting of national mastitis council, 21, Louisville. Kentucky: N.M.C, 1982, 101- 111.
- Eberhart, R. J. (1986). Management of dry cows to reduce mastitis. *Journal of Dairy Science*, 69, 1721-32.

- Edmonson, A. J., Lean, I. J., Weaver, L. D., Farver, T. & Webster, G. (1989). A body condition scoring chart for Holstein dairy-cows. *Journal of Dairy Science*, 72, 68–78.
- Enevoldsen, C. & Sorensen, J. T. (1992). Effects of dry period length on clinical mastitis and other major clinical health disorders. *Journal of Dairy Science*, 75, 1007–14.
- Fernández, A. P. (2016). Mastites clínicas moderadas. Manual de tratamento da mastite bovina. Publicações Ciência & Vida. *Bayer Saúde Animal*.
- Foley, R. C., Bath, D. L. & Tucker, H. A. (1972). Dairy Cattle: principles, practices, problems, profits. Philadelphia: Lea & Febiger, 603.
- Fonseca, L. F. L. & Santos, M. V. (2001). Qualidade do leite e controle da mastite. São Paulo: Lemos, 175.
- Fox, L. K. (2012). Mycoplasma Mastitis Causes, Transmission, and Control. *The Veterinary Clinics Food Animal*, 28, 225–237.
- Funk, D. A., Freeman, A. E. & Berger, P. J. (1987). Effects of previous days open, previous days dry, and present days open on lactation yield. *Journal of Dairy Science*, 70, 2366–2373.
- Gleeson, D. E., O'Brien, B., Boyle, L. & Earley, B. (2007). Effect of milking frequency and nutritional level on aspects of the health and welfare of dairy cows. *Animal* 1, 125–132.
- Goff, J. P. & Horst, R. L. (1997). Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. *Journal of Dairy Science*, 80, 1260 – 1268.
- González, R. N. & Wilson, D. J. (2003). Mycoplasmal mastitis in dairy herds. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 19, 199–221.
- Gulay, M. S., Hayen, M. J., Head, H. H., Wilcox, C. J. & Bachman, K. C. (2005). Milk production from Holstein half udders after concurrent thirty- and seventy-day dry periods. *Journal of Dairy Science*, 88, 3953–3962.
- Güler, L. & Gündüz, K. (2007). Virulence properties of Escherichia coli isolated from clinical bovine mastitis. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Science*, 31, 361–365.
- Grummer, R. R., Mashek, D.G. & Hayirli, A. (2004). Dry matter intake and energy balance in the transition period. *The Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 20, 447 – 470.
- Grummer, R. R., & Rastani, R. R. (2004). Why re-evaluate the length of dry period? *Journal of Dairy Science*, 86, 153.
- Green, M. J., Huxley, J. & Bradley, A. (2002). A rational approach to dry cow therapy 1. Udder health priorities during the dry period.

- Green, M. J., Green, L. E., Medley, G. F., Schukken, Y. H. & Bradley, A. J. (2002). Influence of dry period bacterial intramammary infection on clinical mastitis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 85, 2589–99.
- Green, M. J., Bradley, A. J., Medley, G. F. & Browne, W. J. (2007). Cow, farm, and management factors during the dry period that determine the rate of clinical mastitis after calving. *Journal of Dairy Science*, 90, 3764–3776.
- Grindal, R. J., Walton, A.W. & Hillerton, J. E. (1991). Influence of milk flow rate and streak canal length on new intramammary infection in dairy cows. *Journal of Dairy Research* 58, 383-388.
- Halasa, T., Huijps, K., Osteras, O. & Hogeveen, H. (2007). Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: A review. *Veterinary Quarterly*, 29, 18–31.
- Hanayama, R. & Nagata, S. (2005). Impaired involution of mammary glands in the absence of milk fat globule EGF factor 8. 102, 16886-91.
- Hill, A.W. (1981). Factors influencing the outcome of *Escherichia coli* mastitis in the dairy cow. *Research in Veterinary Science*, 31, 107–112.
- Hogan, J. S, Pankey, J. W & Duthie, A. H. (1987). Growth inhibition of mastitis pathogens by long-chain fatty acids. *Journal of Dairy Science*, 70, 927–34.
- Hogeveen, H., Huijps, K. & Lam, T. J. G. M. (2011). Economic aspects of mastitis: new developments. *New Zealand Veterinary Journal*, 59, 16–23.
- Hogeveen, H. (2005). Mastitis is an economic problem, Proceedings of the British Mastitis Conference. Stoneleigh, 1-13. Institute for Animal Health / The Dairy Group.
- Horst, R. L., Goff, J. P. Reinhardt, T. A. & Buxton, D. R. (1997). Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 80, 1269–1280.
- Huijps, K., Lam, T. J. & Hogeveen, H. (2008). Costs of mastitis: facts and perception. *The Journal of Dairy Research*, 75, 113–120.
- Hurley, W. L. (1989). Mammary gland function during involution. *Journal of Dairy Science*, 72, 1637-1646.
- Ingram, C. D., Bicknell, R. J. & Mason, W. T. (1986). Intracellular recordings from bovine anterior pituitary cells: Modulation of spontaneous activity by regulators of prolactin secretion. *Endocrinology*, 119, 2508–2518.
- Isaka, N. (2011). Pilot Clinical study CLT/C646/0916. Clinical evaluation of the udder during the three first weeks of the dry off period in dairy cows. *Ceva study report*.
- Jasper, D. E. (1982). The role of Mycoplasma in bovine mastitis. *Journal America Veterinary Medicine Association*, 181, 158–162.
- Jones, G. M. & Bailey, T. L. (2009). Understanding the Basics of Mastitis. Virginia Cooperative Extension, *Virginia State University*, USA, publication n° 404-233, 1-7.

- Jørstad, A., Farver, T. B. & Riemann, H. (1989). Teat canal diameter and other cow factors with possible influence on somatic cell counts in cow milk. *Acta Vet. Scand.* 30, 239–245.
- Klaas, I. C., Enevoldsen, C., Ersbøll, A. K & Tölle, U. (2005). Cow-related risk factors for milking leakage. *Journal of Dairy Science*, 88, 128–136.
- Kossaibati, M. A. & Esslemont, R. J. (1997). The costs of production diseases in dairy herds in England. *Veterinary Journal*, 154, 41–51.
- Kuhn, M. T., Hutchison, J. L. & Lawrence, H. D. (2005). Characterization of days dry for United States Holsteins. *Journal of Dairy Science*, 88, 1147–1155.
- Kuhn, M.T., Hutchison, J. L., Norman, H. D. (2006). Dry period length to maximize production across adjacent lactations and lifetime production. *Journal of Dairy Science*, 89, 1713-22.
- Kunz, P. L., Blum, J. W. Hart, I. C. Bickel, H. & Landis, J. (1985). Effects of different energy intakes before and after calving on food intake, performance and blood hormones and metabolites in dairy cows. *Animal Production*.40, 219-231.
- Klusmeyer, T. H., Fitzgerald, A. C. Fabellar, A. C. Ballam, J. M. Cady, R. A. & Vicini, J. L. (2009). Effect of recombinant bovine somatotropin and a shortened or no dry period on the performance of lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 5503-5511.
- Kuttila, T., Pyörala, S., Kaartinen, L., Isomäki, R., Vahtola, K., Myllykoski, L. & Saloniemi, H. (2003). Lactoferrin and citrate concentrations at drying-off and during early mammary involution of dairy cows. *Journal of Veterinary Medicine*, 50, 350-353.
- Kvapilík, J., Hanuš, O., Bartoň, L., Klimešová, M. V. & Roubal, P. (2015). Mastitis of dairy cows and financial losses: an economic meta-analysis and model calculation. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*, 21, 1092–1105.
- Lacasse, P., Ollier, S., Lollivier, V. & Boutinaud, M. (2016). New insights into the importance of prolactin in dairy ruminants. *Journal of Dairy Science*, 99, 864–874.
- Lefebvre, D. M. & Santschi, D. E. (2012). New Concepts in Dry Period Management. *Advances in Dairy Technology*, 24, 203-218.
- Leitner, G., Jacoby, S., Maltz, E., Silanikove, N. (2007). Casein hydrolysate intramammary treatment improves the confort behavior of cows induced into dry-off. *Livestock Science*, 110 898-297.
- Lévesque, P. (2004). Less Mastitis: Better milk. Canada: Hoard's Dairyman.
- Lollivier, V., Lacasse, P., Angulo, J., Arizala, P., Lamberton, Wiart, J., Portanguen & Boutinaud, M. (2015). In vivo inhibition followed by exogenous supplementation demonstrates galactopoietic effects of prolactin on mammary tissue and milk production in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 98, 8775-87.

- Lombard, J., Slyke, T. V., Welcome, F., Schukken, Y. & Kopral, C. (2008). Prevalence of contagious mastitis pathogens on U.S. dairy operations. *NMC 47th Annual Meeting Proceedings*, New Orleans, Louisiana, 20-23, 170-171.
- Lundberg, A. (2015). Mastitis in dairy cows. Genotypes, Spread, and Infection Outcome of Three Important Udder Pathogens. Doctoral Thesis. *Swedish University of Agricultural Sciences*.
- Mayasari, N., Reilingh, G., Nieuwland, M. G. B., Remmelink, G. J., Parmentier, H. K., Kemp, B., Knegsel, A. T. M. (2015). Effect of maternal dry period length on colostrum immunoglobulin content and on natural and specific antibody titers in calves. *Journal of Dairy Science*, 98, 3969–3979.
- Mallo, J. (2016). Tratamento de secagem. Manual de tratamento da mastite bovina. Publicações ciência & Vida. *Bayer Saúde Animal*.
- Mann, S., Yepes, F. A., Overton, T. R., Lock, A. L., Lamb, S.V., Wakshlag, J. J. & Nydam, D. V. (2016). Effect of dry period dietary energy level in dairy cattle on volume, concentrations of immunoglobulin G, insulin, and fatty acid composition of colostrum. *Journal of dairy Science*, 99, 1515-1526.
- Mcdonald, J. S. & Anderson, A. J. (1981). Total and differential somatic cell counts in secretions from non-infected bovine mammary glands: The Early nonlactating period. *American Journal of Veterinary Research*, 42, 1360-1365.
- McInerney, J. P., Howe, K. S. & Schepers, J. A. (1992). A framework for the economic analysis of disease in farm livestock. *Preventive Veterinary Medicine*, 13, 137–154.
- Mitev, J., Z. Gergovska, T. Miteva & T. Penev. (2011). Influence of lameness on daily milk yield, lactation curve and body condition score during lactation in Black-and White cows. *Bulgarian Journal of Agriculture Science*, 17, 704-711.
- Morcuende, J. R. (2016). Mastites hiperagudas. Manual de tratamento da mastite bovina. Publicações ciência & Vida. *Bayer Saúde Animal*.
- National Animal Health Monitoring System. (2007). Dairy 2007. Part I- Reference of Dairy Cattle Health and Management Practices in the United States. *Animal and Plant Health Inspection Service*, U.S. Department of Agriculture.
- Nacional Mastitis Council. (2010). A Practical Look at Contagious Mastitis. Dairy 2010. Verona, USA.
- Nacional Mastitis Council (2010). A Practical Look at Environmental Mastitis. Dairy 2010. Verona, USA.
- National Research Council. (2001). Nutrient Requirements of Dairy Cattle. (7ª edição). National Academy Press, Washington D.C.
- Neave, F. K., Dodd, F. H. & Henriques, E. (1950). Udder infections in the dry period. *Journal of Dairy Research*, 17, 37-49.



- Neijenhuis, F., Barkema, H. W., Hogeveen, H. & Noordhuizen, J. P. (2001). Relationship Between Teat-End Callosity and occurrence of clinical Mastitis. *Journal of Dairy Science*, 84, 2664-2672.
- Nickerson, S. C. (1989). Immunological aspects of mammary involution. *Journal of Dairy Science*, 72, 1665-1678.
- Nickerson, S. C. (2010). Importance of dry cow management in the control of mastitis, *University of Georgia*.
- Nielsen, C. (2009). Economic Impact of Mastitis in Dairy Cows. *Swedish University of Agriculture Sciences*.
- Nogal, P. J. A. (2008). Gestión Técnica de Granjas de Vacuno Lechero: Aspectos de Manejo. *Universidad de León*.
- Nyman, A. K., Persson Waller, K., Bennedsgaard, T. W., Larsen, T. & Emanuelson, U. (2014). Associations of udder-health indicators with cow factors and with intramammary infection in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 97, 5459–5473.
- Oliver, S. P. & Mitchell, B. A. (1983). Susceptibility of bovine mammary gland to infections during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 66, 1162-6.
- Oliver, S. P. & Sordillo, L. M. (1989). Approaches to the manipulation of mammary involution. *Journal of Dairy Science*, 72, 1647 – 1664.
- Oliver S. P & Bushe T. (1987). Growth inhibition of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* during involution of the bovine mammary gland: relation to secretion composition. *Aminaml Journal of Veterinary Research*, 48, 1669–73.
- Oliver, S. P., Shull, E. P. & Dowlen, H. H. (1990). Influence of different methods of milk cessation, on intramammary infections during the peripartum period. *Proceedings of the National Mastitis Council*. International mastitis Symposium, 92-7.
- Ollier, S., Zhao, X. & Lacasse, P. (2013). Effect of prolactin-release inhibition on milk production and mammary gland involution at drying-off in cows. *Journal of Dairy Science*, 96, 335–343.
- Ostergaard, S., Chagunda, M. G., Figgins, N. C., Bennedsgaard, T. W. & Klaas, I. C. (2005). A stochastic model simulating pathogens-specific mastitis control in dairy herd. *Journal of Dairy Science*, 88, 4243-57.
- Österman, S. & Redbo, I. (2001). Effects of milking frequency on lying down and getting up behaviour in dairy cows. *Appl. Animal Behaviour Science*, 70, 167–176.
- Østerås, O., Dairies, T. N. & Ås, N. (2000). The cost of mastitis - an opportunity to gain more money. In *Proceedings British Mastitis Conference*, 67–77. Shepton Mallet, UK.
- Overton, T. R. & Waldron, M. R. (2004). Nutritional Management of Transition Dairy Cows: Strategies to Optimize Metabolic Health. *Journal of Dairy Science*, 87, 105–119.
- Paape, M. J.; Bannerman, D. D., Zhao, X. & Lee, J. W. (2003). The bovine neutrophil: Structure and function in blood and milk. *Veterinary Research*, 34, 597-627.

- Pantoja, J. C. F., Hulland, C. & Ruegg, P. L. (2009). Somatic cell count status across the dry period as a risk factor for the development of clinical mastitis in the subsequent lactation. *Journal of Dairy Science*, 92, 139-148.
- Pearson, J. K. J. (1951). Further experiments in the use of penicillin in the prevention of *C.pyogenes* infection of the non-lactating bovine udder. *Veterinary records*, 63, 215-220.
- Pecorini, C., Delpal, S. Truchet, S. Le Provost, F. Baldi, A. & Ollivier-Bousquet, M. (2009). Lactoferrin at basal side of mouse mammary epithelium derives in part from stroma cells. *Cell Tissue Research*, 338, 241–255.
- Pérez-Cabal, M. A., Yaici, S. & Alenda, R. (2008). Clinical mastitis in Spanish dairy cows: incidence and costs. *Spanish Journal of Agricultural Research*, 6, 615-622.
- Persson Waller, K., Westermarck, T., Ekman, T. & Svennersten- Sjaunja, K. (2003). Milk Leakage – An increased risk in automatic milking systems. *Journal of Dairy Science*, 86, 3488–3497.
- Persson Waller, K., Bengtsson, B., Lindberg, A., Nyman, A. & Ericsson Unnerstad, H. (2009). Incidence of mastitis and bacterial findings at clinical mastitis in Swedish primiparous cows- influence of breed and stage of lactation. *Veterinary Microbiology*, 134, 89–94.
- Petrovski, K. R., Trajcev, M. & Bunerski, G. (2006). A review of the factors affecting the costs of bovine mastitis. *Journal of the South African Veterinary Association*, 77, 52-60.
- Radostits, O. M., Gay, C. C. Hinchcliff, K. W & Constable, P. D. (2006). Mastitis. In O. M. Radostits, C. C. Gay, K. W. Hinchcliff, Constable, P. D. (10<sup>th</sup> ed.). *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. pp. 673-724. Edinburgh: W. B. Saunders Company Ltd.
- Rajala-Schultz, P. J., Hoga, J. S. & Smith, K. L. (2005). Short Communication: Association Between milk yield at dry-off and probability of intramammary infections at calving. *Journal of Dairy Science*, 88, 577-579.
- Rastani, R. R., Grummer, S. J. Bertics, A. Gümen, M. C. Wilt- bank, D. G. Mashek, & M. C. Schwab. (2005). Reducing dry period length to simplify feeding transition cows: Milk production, energy balance, and metabolic profiles. *Journal of Dairy Science*, 88, 1004–1014.
- Retamal, P. M. (2011). *Dairy Production Medicine*. Wiley-Blackwell. John Wiley & Sons, Inc.
- Roche, J. R., Friggens, N. C., Kay, J. K., Fisher, M. W., Stafford, K. J. & Berry D. P. (2009). Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. *Journal of Dairy Science*, 92, 5769–5801.
- Ruegg P. (2002). *Managing the dry period for milk quality*. University of WI, Madison.

- Robinson, P. H., Moorby, J. M., Arana, M., Hinders, R., Graham, T., Castelanelli, L. & Barney, N. (2001). Influence of close-up dry period protein supplementation on productive and reproductive performance of Holstein cows in their subsequent lactation. *Journal of Dairy Science* 84, 2273–2283.
- Sanchez, J. (2016). Mastites subclínicas e crônicas. Manual de tratamento da mastite bovina. Publicações ciência & Vida. Bayer Saúde Animal.
- Schepers, J. A. & Dijkhuizen, A. A. (1991). The economics of mastitis and mastitis control in dairy cattle: a critical analysis of estimates published since 1970. *Preventive Veterinary Medicine*, 10, 213-224.
- Schukken, Y. H., Grommers, F. J., van de Geer, D., Erb, H. N. & Brand, A. (1990). Risk factors for clinical mastitis in herds with a low bulk milk somatic cell count. 2. Risk factors for *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of Dairy Science*, 74, 826–832.
- Schukken, Y. H., Vanliet J., Vandeger D. & Grommers J. A. (1993). Randomized Blind Trial at dry Cow Antibiotic Infusion in a Low Somatic Cell count herd. *Journal of Dairy Science*, 76, 2925-2930.
- Schmidt, G. H.; Van Vleck, L. D. & Hutjens, M. F. (1988). Principles of dairy science. New Jersey: Prentice Hall, 466.
- Scott, P. R., Penny, C. D. & Macrae, A. I. (2011). *Cattle Medicine*. (1<sup>st</sup> ed.). (pp. 216-235). London: Manson Publishing Ltd.
- Serrenho, R. T. (2015). Caracterização da qualidade de leite e comparação do impacto económico das mastites em três bacias leiteiras em Portugal- Ilha de São Miguel, Açores, Entre-Douro-e-Minho e região Centro, Dissertação de Mestrado em Medicina Veterinária, Faculdade de Medicina Veterinária de Lisboa, Lisboa.
- Smith, A., Wheelock, J. V. & Dodd, F. H. (1967). Changes in the quantity and composition of mammary gland secretion in the dry period between lactations. The complete dry period. *Journal of Dairy Research*, 34, 13-19.
- Smith, K. L, Oliver & S. P. (1981). Lactoferrin: a component of non-specific defense of the involuting bovine mammary gland. In: Butler JE, editor. The ruminant immune system. New York: Plenum Press. pp. 535.
- Smith, K. L. & Todhunter, D. A. (1982). The physiology of mammary glands during the dry period and the relationship to infection. In: *Annual Meeting of National Mastitis*, 21, 87-100.
- Smith, K. L, Todhunter, D. A. & Schoenberger, P. S. (1985). Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. *Journal of Dairy Science*, 68, 1531-1553.
- Smith, K. L, Todhunter, D. A. & Schoenberger, P. S. (1985). Environmental pathogens and intramammary infection during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 68, 402-15.
- Smith, K. L. & Hogan, J. S. (2000). Bedding's Contribution to Mastitis in Dairy Cows. *Dairy Housing and Equipment Systems*, Managing and Planning for Profitability, 129.

- Sordillo, L. M, Nickerson, S. C., Akers, R. M. & Oliver, S. P. (1987). Secretion composition during bovine mammary involution and the relationship with mastitis. *International Journal of Biochemistry*, 19, 1165-72.
- Sordillo L. M & Nickerson S. C. (1988). Morphometric changes in the bovine mammary gland during involution and lactogenesis. *American Journal of Veterinary Research*, 49, 1112.
- Sordillo, L. M. (2016). Fisiologia da glândula mamária: o que sabemos realmente? College of Veterinary Medicine, Michigan State University, Michigan, USA. Acedido em abril de 2016, disponível em <http://www.milkpoint.br>.
- Stowell R. R & Inglis S. (2000). Sand for Bedding. Dairy Housing and Equipment Systems, 129.
- Steeneveld, W., Swinkels, J. & Hogeveen, H. (2007). Stochastic modelling to assess economic effects of treatment of chronic subclinical mastitis caused by *Streptococcus uberis*. *The Journal of Dairy Research*, 74, 459–467.
- Svennersten-Sjaunja, K. & Olsson, K. (2005). Endocrinology of milk production. *Domestic Animal Endocrinology*, 29, 241-58.
- Teixeira, P., Ribeiro, C. & Simões, J. (2008). Prevenção de mamites em explorações de bovinos leiteiros. Acedido em março 10, 2016, disponível em: <http://www.veterinaria.com.pt/>.
- Todhunter, D. A, Smith, K. L, Hogan, J. S. (1995). Environmental streptococcal intramammary infections of the bovine mammary gland. *Journal of Dairy Science*, 78, 2366–74.
- Verbeke, J., Piepers, S., Supre, K. & De Vliegher, S. (2014). Pathogen-specific incidence rate of clinical mastitis in Flemish dairy herds, severity, and association with herd hygiene. *Journal of Dairy Science*, 97, 6926–6934.
- Ward, G. E. & Shultz, L. H. (1974). Incidence and control of mastitis during the dry period. *Journal of Dairy Science*, 57, 11, 1341-1349.
- Watters, R. D., Guenther, J. N., Brickner, A. E., Rastani, R. R., Crump, P. M., Clark, P. W., & Grummer, R. R. (2008). Effects of dry period length on milk production and health of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 91, 2595–2603.
- Woolford, M.W., Williamson, J.H., Day, A.M. & Copeman, P. J. A. (1998). The prophylactic effect of a teat sealer on bovine mastitis during the dry period and the following lactation. *New Zealand Veterinary Journal*, 46, 12–19.
- Yalçın, C. (2000). Cost of mastitis in Scottish Dairy Herds with low and high subclinical mastitis problems. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 24, 465-72.
- Zobel, G., Leslie, K., Weary, D. M. & von Keyerslingk, M. A. G. (2013). Gradual cessation of milking reduces milk leakage and motivation to be milked in dairy cows at dry off. *Journal of Dairy Science*, 96, 5064-5017.

# ANEXOS

## ANEXO I – Folha de registo da exploração

Farm:	
Nuber of cows	
Number of lactating cows	
Number of milking	2/day 3/day robot (specify the average)
Type of milking parlour	Side opening parlor (Tandem) Herringbone (Fishbone) parlor Automatic milking system (Robot) Paralle parlor (side by side) Rotary (Carousel et.) parlor Other
Annual average milk production	(kg)
Production average level (Year)	(kg)

First milking	from:	to:	hour
Second milking	from:	to:	hour
Third milking	from:	to:	hour

Milk meters displays	Yes	No
----------------------	-----	----

Dry cows housing	type	space/anim
	bedded	
	pasture	
	cubicles	
	tied	

Type of bedding	
Bedding cleaning frequency	

Clinical mastitis (average/month %)	
(number of mastitis cases)/ number of lactating cows) x 100	

Last 3 months bulk somatic cell count (BSCC)	Date	SCC
Month -1		
Month -2		
Month -3		










Dry Off Management			
Abrupt Dry-Off			
Gradual Dry-Off			
Reduced number of milking before dry-off	Yes	No	
Reduce feeding method in last week before dry-off	Yes	No	If yes, add relevant comments
Water supply restraint	Yes	No	
Dry cows dedicated housing	Yes	No	If yes, add relevant comments
Criteria for dry off			
Milk production threshold	Yes	No	If yes, specify
Days in pregnancy	Yes	No	If yes, specify
Dry cow therapy			
Intramammary antibiotic (dry-off)			Relevant comments (criteria/ reasons for use)
Blanket	selective	no	
Parenteral antibiotic (dry-off)			Relevant comments (criteria/ reasons for use)
Blanket	selective	no	
Internal Teat sealant			Relevant comments (criteria/ reasons for use)
Yes	No		
External Teat sealant			Relevant comments (criteria / reasons for use)
Yes	No		

## ANEXO II – Folha de registo dos animais do estudo

Farm									
Cow ID		Birth date		Teats lactating (yes/no)				Clinical mastitis last 30 days before DO	
Dry-off date		DIM		LF		RF			
Lactation		Pregnancy days		LH		RH			
Parity number		Expected calving							
Last AI (date)		Calving date		Teat score (1 - 4)					
				LF		RF			
				LH		RH			
Average milk production 24h before DO									
Dry-off									
Abrupt Dry-Off				Time of Dry-Off					
Gradual Dry-Off									
Reduced number of milking before dry-off		Yes	No	If yes, add relevant comments					
Reduce feeding method in last week before dry-off		Yes	No	If yes, add relevant comments					
Water supply restraint		Yes	No	If yes, add relevant comments					
Intramammary antibiotic (dry-off)									
Yes		no							
Parenteral antibiotic (dry-off)									
Yes		no							
Teat sealant									
Yes		no							
Observations									
Observation 1				Teat leakage				Teat leakage	
Date				LF		RF		1 - milk under udder	
Hour				LH		RH		2 - drop in teat end	
				Unknown quarter				3 - milk leakage	
				the observation has t					
Observation 2				Teat leakage				Teat leakage	
Date				LF		RF		1 - milk under udder	
Hour				LH		RH		2 - drop in teat end	
				Unknown quarter				3 - milk leakage	
				the observation has t					
Observation 3				Teat leakage				Teat leakage	
Date				LF		RF		1 - milk under udder	
Hour				LH		RH		2 - drop in teat end	
				Unknown quarter				3 - milk leakage	
				the observation has t					
Clinical mastitis from DO until last 30 days after calving									
LF		RF		Treated					
				Yes No		If yes, add relevant comments			
LH		RH				(treatment - AINE/AINE's)			

**ANEXO III - Pontuação de hiperqueratose dos tetos (1- No ring; 2- Smooth or Slightly rough ring; R- Rough ring; VR- Very Rough ring).**

A scoring system for teat-end condition (Mein et al. 2001)

Score	Description	Illustration
<div>N</div> <div>1</div>	<b>No ring</b> The teat-end is smooth with a small, even orifice.  This is a typical status for many teats soon after the start of lactation	 
<div>S</div> <div>2</div>	<b>Smooth or Slightly rough ring</b> A raised ring encircles the orifice. The surface of the ring is smooth or it may feel slightly rough but no fronds of old keratin are evident.	  
<div>R</div> <div>3</div>	<b>Rough ring</b> A raised, roughened ring with isolated fronds or mounds of old keratin extending 1 - 3 mm from the orifice.	 
<div>VR</div> <div>4</div>	<b>Very Rough ring</b> A raised ring with rough fronds or mounds of old keratin extending 4 mm or more from the orifice. The rim of the ring is rough and cracked, often giving the teat-end a "flowered" appearance.	 

**ANEXO IV - Classificação de gotejamento de leite. Da esquerda para a direita: 1- Leite sob o úbere; 2- Gotejamento de Leite; 3- Fluxo de leite.**





## ANEXO V – Associação estatística entre variáveis

		HQ	PL Total	PLSec	TipoSec	Paridade	DEL	DG
GL	P	0,4150	0,1458	0,0036	0,0072	0,9842	0,5384	0,7328

**HQ**- Hiperqueratose; **PL Total**- Produção de Leite Total; **PLsec**- Produção de Leite à secagem; **DEL**- Dias em Leite; **DG**- Dias de gestação

**Probabilidade de ocorrência de mastite clínica após o parto de acordo com a presença de hiperqueratose à secagem.**

	HQ 0	HQ 1	P
<b>Mastite clínica pós-parto</b>	0,5817+- 0,1593	0,118+-0,0864	0,0497

**HQ 0**- Sem Hiperqueratose; **HQ1**- Com Hiperqueratose

**Probabilidade de ocorrência de mastite clínica após o parto de acordo com a presença de gotejamento de leite.**

	GL 0	GL 1	P
<b>Mastite clínica pós-parto</b>	0,072+- 0,0359	0,775 +-0,1538	0,0017

**GL 0**- Sem Gotejamento de Leite; **GL 1**- Com Gotejamento de Leite

**Probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite à secagem consoante a produção de leite.**

	<i>Mean</i>	<i>P</i>
<b>Probabilidade de 0L à secagem</b>	0,0002+-0,00043	0,0006
<b>Probabilidade de 5L à secagem</b>	0,0006 +-0,00124	0,0004
<b>Probabilidade de 10L à secagem</b>	0,0022+- 0,00347	0,0003
<b>Probabilidade de 15L à secagem</b>	0,0075+- 0,00908	0,0001
<b>Probabilidade de 20L à secagem</b>	0,0258+- 0,02132	<,0001
<b>Probabilidade de 25L à secagem</b>	0,0848 +-0,04268	<,0001
<b>Probabilidade de 30L à secagem</b>	0,245+- 0,0893	0,0223
<b>Probabilidade de 35L à secagem</b>	0,532+- 0,1781	0,8604
<b>Probabilidade de 40L à secagem</b>	0,799 +-0,1714	0,1999

**Probabilidade de ocorrência de gotejamento de leite nas vacas secas gradualmente e abruptamente.**

	<b>Secagem Abrupta (B)</b>	<b>Secagem Gradual (A)</b>	<i>P</i>
<b>GL</b>	0,151+- 0,0688	0,005+- 0,0070	0,0072

**Produção de leite à secagem em vacas secas abruptamente e vacas secas gradualmente.**

	<b>Secagem Abrupta (B)</b>	<b>Secagem Gradual (A)</b>	<i>P</i>
<b>PLSec (DEL 330)</b>	17,355 +-1,1516	24,097+-1,2093	<0,0001

**PLsec-** Produção de Leite à secagem; **DEL-** Dias em Leite

**Probabilidade de ocorrência de novas IIM de acordo com a presença de gotejamento de leite.**

	<b>GL 0</b>	<b>GL 1</b>	<i>P</i>
<b>Nova Infecção</b>	0,023+-0,0183	0,137+-0,1304	0,1754

**GL0-** Sem Gotejamento de Leite; **GL 1-** Com gotejamento de Leite